SÉRIE A, N° 4591
N° D'ORDRE : 5438

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR
LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Edward S. KURSTAK

1re THÈSE

LE RÔLE DE *NEMERITIS CANESCENS* GRAVENHORST DANS L'INFECTION A *BACILLUS THURINGIENSIS* BERLINER CHEZ *EPHESTIA KÜHNIELLA* ZELLER

2e THÈSE

Propositions données par la Faculté

28 OCT 1965

Soutenues le *devant la Commission d'Examen :*

MM. P. P. GRASSÉ *Président*
A. LWOFF } *Examinateurs*
P. GRISON }

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
*149, rue de Grenelle - Paris-VII*e

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546825_0018

Série A, n° 4591
N° d'ordre : 5438

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR
LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Edward S. KURSTAK

1re THÈSE

LE RÔLE DE *NEMERITIS CANESCENS* GRAVENHORST DANS L'INFECTION A *BACILLUS THURINGIENSIS* BERLINER CHEZ *EPHESTIA KÜHNIELLA* ZELLER

2e THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le *devant la Commission d'Examen :*

MM. P. P. GRASSÉ *Président*
A. LWOFF, P. GRISON *Examinateurs*

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
*149, rue de Grenelle - Paris-VII*e

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen..... M. ZAMANSKY.

BRELOT	T	Analyse supérieure.
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées.
GRASSÉ	T	Évolution des êtres organisés.
PRÉVOST	T	Chimie organique.
WYART	T	Minéralogie et Cristallogr.
TEISSIER	T	Zoologie.
MANGENOT	T	Biologie vég. (Orsay).
AUGER	T	Physique quantique et Relativité.
MONNIER	T	Physiologie générale.
PIVETEAU	T	Paléontologie.
ROCARD	T	Physique E. N. S.
CARTAN	T	Mathématiques E. N. S.
LAFFITTE	T	Chimie générale.
N	T	Géométrie supérieure.
COULOMB	T	Physique du Globe.
Mlle COUSIN	T	Biologie animale (SPCN)
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.
BOCQUET	T	Zoologie.
KASTLER	T	Physique (E. N. S.).
EPHRUSSI	T	Génétique.
RIVIÈRE	T	Géologie(SPCN) et Sédim. (Orsay).
GAUTHERET	T	Biologie vég. (PCB).
LUCAS R.	T	Recherches physiques.
THOMAS A.	T	Biologie cellulaire.
ARNULP	T	Optique appliquée.
MORAND	T	Physique Enseignement.
SOLEILLET	T	Physique (PCB).
FORTIER	T	Mécanique exp. des Fluides.
DRACH	T	Zoologie.
QUENEY	T	Météorologie et Dynamique atmosphérique.
GALLIEN	T	Embryologie.
EICHHORN	T	Botanique.
DE CUGNAC	T	Biologie végétale (SPCN).
Mlle CAUCHOIS	T	Chimie physique.
THELLIER	T	Physique du Globe.
L'HÉRITIER	T	Biologie générale (Orsay).
GRIVET	T	Radioélectricité (Orsay).
PONCIN	T	Mécanique générale.
DUBREIL	T	Arithmétique et Théorie des nombres.
QUELET	T	Chimie organique.
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée.
CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire.
CUVILLIER	T	Micropaléontologie.
JUNG	T	Géologie.
TRILLAT	T	Microscopie et Diffraction électronique.
WIEMANN	T	Chimie organique et struc.
JACQUINOT	T	Spectroscopie et Physique céleste (Orsay).
VASSY	T	Physique de l'atmosphère.
DESTOUCHES	T	Théorie physique.
AMIEL	T	Chimie générale.
HOCART	T	Minéralogie et Cristallogr.
MATHIEU J.-P.	T	Physique optique.
COUTEAUX	T	Biologie animale (PCB).
MAY	T	Zoologie
CHOQUET	T	Théorie des Fonctions et Topologie.
FELDMANN	T	Biologie végétale marine.
GUINIER	T	Physique des Solides (Orsay).
JOST	T	Physiologie comparée.
FORTET	T	Calcul des Probabilités et Physique mathématique.
SCHWARTZ	T	Calcul diff. et intégral.
CHOUARD	T	Physiologie végétale.
MALAVARD	T	Aviation (Techn. aéronaut.).
NORMANT	T	Synthèse organique.
BÉNARD	T	Chimie minérale.
BUVAT	T	Botanique (E. N. S.).
DUGUÉ	T	Statistiques mathématiques.
SOULAIRAC	T	Psychophysiologie.
ULRICH	T	Physiologie végétale.
MARÉCHAL	T	Optique théorique appl.
KIRRMANN	T	Théories chimiques.
CHADEFAUD	T	Botanique.
Mlle LE BRETON	T	Physiologie de la Nutrition.
LELONG	T	Applic. de l'Analyse à la Géométrie.
DEVILLERS	T	Anatomie et Histol. comp.
EHRESMANN	T	Topologie algébrique.
FRANÇON	T	Physique (SPCN).
GLANGEAUD	T	Géographie phys. et Géologie
DODEMENT	T	Mathématiques (MGP).
PISOT	T	Tech. mathém. de la Phys.
ROCH	T	Géologie.
SCHATZMANN	T	Astrophysique.
TERMIER	T	Géologie générale.
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.
LENNUIER	T	Physique (MGP).
RIZET	T	Génétique (Orsay).
ROUTHIER	T	Géologie appliquée.
Mme TONNELAT	T	Physique théorique.
DIXMIER	T	Mathématiques (MPG).
SOUCHAY	T	Chimie générale.
AIGRAIN	T	Électrotechnique génér.
BRUSSET	T	Chimie systématique.
M. LÉVY	T	Physique théorique des hautes énergies (Orsay).
Mme CHAIX	T	Chimie biologique.
Mme HUREL-PY	T	Biologie végétale (PCB).
PANNETIER	T	Chimie générale.
BRUN	T	Mécan. théorique des Fluides.
LEDERER	T	Chimie biologique (Ors.).
Mme DUBREIL	T	Mathém. (Agrégation).
Mme LELONG	T	Mathém. II (E. N. S.).
BELLAIR.	T	Géologie (SPCN).
COTTE	T	Physique électricité.
DUBOIS J.-E.	T	Chimie organique.
LAMOTTE	T	Zoologie (E. N. S.).
MICHEL A.	T	Chimie minérale (Orsay)
OLMER	T	Énergétique générale.
ROUAULT	T	Électricité (Orsay).
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée.
BARCHEWITZ	T	Chimie physique.
BROSSEL	T	Physique atomique.
BUSER	T	Physiologie comparée.
CAMUS	T	Physiologie vég. (Orsay).
CASTAING	T	Physique II Thermod. (Orsay).
CURIEN	T	Minéralogie et Cristallographie.
MOYSE	T	Physiologie végét. (Orsay).
Mme CHARNIAUX-COTTON	T	Évolution des êtres organisés.
POSSOMPES	T	Zoologie.
PULLMANN	T	Chimie quantique.
TEILLAC	T	Physique nucl. et Radioactivité (Orsay).
TONNELAT	T	Biologie physico-chim.
VILLE	T	Économétrie.
WILLEMART	T	Chimie (PCB).
DODE	T	Chimie (Orsay).
FREYMANN	T	Recherches physiques.
GUINOCHET	T	Biol. vég. SPCN (Orsay).
ROLLET	T	Chimie minérale.
Mlle JOSIEN	T	Chimie SPCN.
CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et Théorie des Groupes.
ARNOULT	T	Électronique (Orsay).
CHAPELLE	T	Physique (Orsay).
DELANGE	T	Mathématiques (Orsay).
DENY	T	Mathématiques générales (Orsay).
GERMAIN	T	Mécan. théor. des Fluides.
LUCAS G.	T	Géologie.
ALLARD	T	Chimie physique.
BERTHELOT	T	Phys. des Particules fondamentales (Orsay).
BRICART	T	Météorologie et Phys. de l'Atmosphère.
Mme ALBE-FESSARD	T	Psychophysiologie.
FRIEDEL	T	Phys. des Solides (Orsay).
JULIA M.	T	Études des Complexes moléculaires.
LENDER	T	Biol. animale (SPCN) (Orsay).

MAGAT	T	Physico-chimie des Radio-éléments.
Mlle QUINTIN	T	Électrochimie.
MONOD	T	Chimie du Métabolisme.
BENOIT	T	Physiol. anim. (Orsay).
DE POSSEL	T	Analyse numérique.
CHARLOT	T	Chimie analytique.
LEMÉE	T	Écologie végétale (Orsay).
GUÉRIN	T	Chimie MPC. (Orsay).
CHATELET M.	T	Chimie (PCB).
JEAN	T	Physique nucléaire (Orsay)
MATTLER	T	Physique (SPCN).
BERGEBARD	T	Zoologie (Orsay).
BERTEIN	T	Électronique (Orsay).
BOUISSIÈRES	T	Radiochimie (Orsay).
Mme COUTURE	T	Thermodynamique et Méc. physique.
ELLEMBERGER	T	Géologie des grandes Régions du Globe. (Orsay).
FRANC	T	Biol. animale (PCB).
SCHNELL	T	Botanique tropicale
STLKOWSKI	T	Physiologie végétale.
ACHER	T	Chimie biol.
BAUDOIN	T	Biologie animale (PC B).
BEAUMONT		Biologie animale (SPCN).
BLAMONT		Géophysique Ionosphère.
BOUREAU	T	Botanique.
CURIE D.		Physique (MGP).
DURAND-DELGA	T	Géologie.
FRÉON	T	Chimie organique (Orsay).
HELLER	T	Physiologie végétale.
TORTRAT	T	Calcul des Probabilités.
CAILLEUX	T	Géologie (SPCN).
MAGNAN		Physique Électricité
DAUDEL	T	Mécanique ondulatoire appl. à la Chim. théor. et à la Phys. nucléaire.
Mlle FOURCROY		Biol. végétale (SPCN).
Mme CHOQUET-BRUHAT		Méc. analytique et Méc. céleste.
Mlle VEIL	T	Physiologie générale.
LWOFF	T	Microbiologie.
SIESTRUNCK	T	Mécan. phys. et expérim.
LACOMBE	T	Métallurg. des Mét. nucl. (Orsay).
BROCHARD	T	Physique PCB. (Orsay).
CABANNES	T	Mécanique générale.
LESIEUR	T	Mathém. I (Orsay).
MAZET	T	Mécanique générale (Ors).
CAIRE		Géographie phys. et Géol. dynamique.
COMOLET		Mécanique des Fluides.
CORABŒUF	T	Physiologie animale Orsay
DELLOUE	T	Physique de l'Exosphère.
GORENFLOT		Botanique II (Orsay).
HOUILLON		Biologie animale (PCB).
JULLIEN J.		Chimie SPCN(Orsay).
MALGRANGE	T	Tech. math. de la Phys. (Orsay).
OLIVIER		Anthropologie.
NOZERAN	T	Botanique II (Orsay).
BLANC-LAPIERRE	T	Physique E. N. S. (Orsay).
CHEVAUGEON	T	Botanique (Orsay).
KAHANE	T	Mathématiques (Orsay).
SAMUEL	T	Mathématiques E. N. S. féminines.
KOURGANOFF	T	Astronomie (Orsay).
THIRY	T	Mécanique céleste.
ABELES		Physique SPCN.
AMAT	T	Physique PCB.
AUBOIN	T	Géologie.
Mme BENOIT-GUEUTAL	T	Physique Nucl. et Radio-activité (Orsay).
BOUGIS		Biologie marine (Villefranche-sur-Mer).
BRUHAT	T	Mathématiques MPC.
BRUNN	T	Géologie historique (Orsay).
CHABBAL	T	Physique MGP (Orsay).
DEHEUVELS	T	Mathématique prop.
D'ESPAGNAT	T	Physique théorique (Orsay).
FURON	T	Géologie SPCN.
Mme GANS	T	Génétique.
GENEVES		Biologie végétale PCB.
GUILBERT		Physique (CUS Orléans
HUPE	T	Pétrographie.
HOLLANDE	T	Biologie générale.
LIONS	T	Analyse numérique.
MAITTE	T	Chimie PCB.
MEYER		Physique propédeutique.
NICOLAS		Géologie appliquée.
PANIGEL		Biologie générale.
RAVIER		Pétrographie.
ROSEAU	T	Mécanique théorique des Fluides.
ROUBINE		Électronique.
SILBER	T	Chimie PCB.
UEBERSFELD	T	Électronique.
YVON	T	Théories physiques.
HERVÉ	T	Mathématiques.
NÉRON	T	Math MPC (Orsay).
Mme PECKER WIMEL	T	Astrophysique.
BALKANSKY		Physique MPC.
LE CORRE	T	Électricité.
DELCROIX	T	Physique théorique (Orsay).
GOURDIN		Physique théorique (Orsay) des hautes Énergies
LEHMANN	T	Phys. exp. des hautes Énergies.
NATAF	T	Physique nucléaire et radioactivité (Orsay).
ÉCHALIER		Biologie animale PCB.
BARRAUD		Physiologie cellulaire.
LIORET		Physiologie vég. Orsay.
DARS		Géologie structurale et géologie appliquée.
CAMEFORT	T	Botanique (agrégation).
VICHNIEWSKY	T	Mécanique industrielle.
BLAQUIÈRE		Électronique (Orsay).
ARNOUS	T	Physique théorique.
TATIBOUET		Chimie (CSU Orléans).
MALLEVIN	T	Math. propédeutique (Orsay).
GAUDEMAR		Chimie propédeutique.
PEREZ Y JORBA		Physique expérimentale des hautes Énergies (Orsay).
DAVID	T	Chimie (agrégation Orsay)
BROUSSE	T	Mécanique théorique.
ROSCH	T	Astronomie.
GUY	T	Physique expérimentale.
LAZARD		Math MPC.
MOREL P.		Physique MPC.
ARSAC		Programmation.
LEFEBVRE		Chimie MPC.
CHAPEVILLE		Biochimie.
BENOIT		Physique CPEM.
RIO		Chimie CPEM.
JAUZEIN		Géologie ENS.
PRÉVOST G.		BV CPEM.
FAVARD P.		BA CPEM.
VILKAS		Chimie CPEM.
Mlle FICINI		Chimie CPEM.
LEQUEUX		Astronomie.
COHEN TANNOUDJI		Physique MPC.
TAVERNIER		Physique CPEM.
Mme ROIZEN		Physique CPEM.
DURAND M.		BA SPCN.
PASCAUD		Physiologie.
Mme PETIT		BA CPEN.
BROUSSE		Géologie Orsay.
CAGNAC		Physique agrégation (Orsay).
LEBERRE		Zoologie (Orsay).
SCHEFFER		Microbiologie (Orsay).
DE GENNES		Physique des Solides (Orsay).
RIOU		Physique nucléaire expérimentale (Orsay(.
CLAUSER		Chimie biolog. (Orsay).
CHEVALIER		Physiologie animale (Orsay).
JANCOVICI		Physique atomique (Orsay).
FALK-VAIRANT		Physique nucl. (Orsay).
FETIZON		Chimie propédeutique (Orsay).
CERF		Mathématiques (Orsay).

Secrétaire général..... R. POULLAIN

LE RÔLE DE *NEMERITIS CANESCENS* GRAVENHORST DANS L'INFECTION A *BACILLUS THURINGIENSIS* BERLINER CHEZ *EPHESTIA KÜHNIELLA* ZELLER

Edward S. KURSTAK

SOMMAIRE

AVANT-PROPOS

INTRODUCTION

PREMIÈRE PARTIE

Étude biologique du parasite *Nemeritis canescens* GRAVENHORST (Ichneumonidae) et de son hôte *Ephestia kühniella* ZELLER (Pyralidae).

CHAPITRE I : Quelques notions morphologiques et biologiques sur *Ephestia kühniella* ZELLER.

1. Généralités.
2. L'imago.
3. Système reproducteur.
4. Fécondité.
5. L'œuf, la larve et la chrysalide.
6. Cycle évolutif.
7. Technique d'élevage.
8. Parasites d'*Ephestia kühniella* ZELL. observés dans les élevages.

CHAPITRE II : Étude biologique de *Nemeritis canescens* GRAVENHORST (Ichneumonidae) parasite entomophage d'*Ephestia kühniella* ZELLER (Pyralidae).

1. Généralités : Position systématique, répartition géographique et principaux hôtes.
2. Matériel et méthodes.
3. Comportement de ponte de *Nemeritis canescens* GRAV.
   a) Effet chimiotactique de la soie et stades larvaires de l'hôte réceptifs à la ponte du parasite.
   b) Superparasitisme.
4. Cycle évolutif de *Nemeritis canescens* GRAV.
   a) Œuf et larve.
   b) Métamorphose. Relations avec la rétention de la soie.
   c) Vie imaginale du parasite. Effet de la température et de l'alimentation.
   d) Effet du nombre d'hôtes sur la durée de vie imaginale du parasite.
5. Activité ovogénétique et reproductrice.
   a) Parthénogenèse thélytoque.
   b) Appareil reproducteur de la femelle.
   c) Maturation, émission et rétention des ovocytes.
6. Descendance effective et correspondance chronologique des cycles évolutifs du parasite et de son hôte à différentes températures.

DEUXIÈME PARTIE

Étude des relations entre l'infection a « Bacillus thuringiensis » berliner et le parasitisme par « Nemeritis canescens » gravenhorst (Ichneumonidae) chez « Ephestia kühniella » zeller (pyralidae).

Chapitre III : Étude de l'influence réciproque du parasite entomophage *Nemeritis canescens* gravenhorst (Ichneumonidae) et de l'épizootie à *Bacillus thuringiensis* berliner chez *Ephestia kühniella* zeller (Pyralidae).

1. Observation de l'épizootie à *Bacillus thuringiensis* berl. chez *Ephestia kühniella* zell. dans un milieu naturellement contaminé.
2. Matériel et méthodes. Mode d'action de *Bacillus thuringiensis* berl.
3. Conséquences d'une intoxication à *Bacillus thuringiensis* berl. sur la survie, la descendance et le potentiel parasitaire de *Nemeritis canescens* grav.
   a) Mortalité de l'hôte due aux deux types parasitaires et survie de *N. canescens*.
   b) Longévité imaginale de *N. canescens* issus d'hôtes intoxiqués par *B. thuringiensis*.
   c) Potentiel de fécondité chez *N. canescens* issus d'hôtes intoxiqués par *B. thuringiensis*.
4. Effets de l'introduction de la tarière du parasite *Nemeritis canescens* grav. au moment de l'émission de l'œuf dans le corps de l'hôte sur l'infection bactérienne à *Bacillus thuringiensis* berl.
5. Effets du superparasitisme de *Nemeritis canescens* grav. et de la teneur en matière infectante.
6. Discussion et conclusions.

Chapitre IV : Étude et interprétation histopathologique du complexe pathologique «blessure-infection » bactérienne à *Bacillus thuringiensis* berliner chez *Ephestia kühniella* zeller.

1. Mise en évidence du complexe.
2. Résultats expérimentaux concernant les rapports entre blessures artificielles et l'infection bactérienne à *Bacillus thuringiensis* berl.
3. Pathogenèse du complexe.

   A. Le processus de l'infection à *B. thuringiensis* chez *E. kühniella* déclenché par le parasitisme de *N. canescens*.

   B. Le mode d'action de *B. thuringiensis* introduit par le parasite *N. canescens* dans l'hémolymphe d'*E. kühniella*.

      a) Matériel et méthodes.
      b) Action d'une oligo-infection expérimentale de l'hémolymphe.
      c) Action de l'oligo-infection combinée avec le surnageant de culture de *B. thuringiensis*.
      d) Acion du surnageant seul de culture de *B. thuringiensis*.

         1° Surnageant non stérilisé.
         2° Surnageant stérilisé (toxine soluble thermostable).

4. Effets de l'insertion de l'œuf de *Nemeritis canescens* GRAV. dans la cavité viscérale d'*Ephestia kühniella* ZELL. par la tarière non contaminée par *Bacillus thuringiensis* BERL. sur l'état des hémocytes de l'hôte.

5. Conclusions.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

RÉSUMÉ

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AVANT-PROPOS

Cette étude a été effectuée dans les laboratoires de la Station de Recherches de Lutte biologique et de Biocœnotique de l'Institut national de la Recherche agronomique à La Minière dirigée par M. P. Grison qui a bien voulu m'orienter sur le sujet traité ici en m'encourageant constamment de ses utiles conseils et de son généreux appui, en mettant à ma disposition des moyens techniques pour mener à bien le présent travail. Il m'a été permis de bénéficier de l'esprit et du savoir scientifique de M. Grison ; sous ses auspices, j'ai acquis une formation française, dont je suis particulièrement enchanté. Je resterai toujours sensible à l'accueil qui m'a été réservé dans les laboratoires de l'I.N.R.A, de la Minière et il m'est particulièrement agréable et je suis très heureux de pouvoir exprimer ici à M. Grison l'expression de ma très profonde reconnaissance et de ma gratitude.

Une part importante de mes recherches a eu lieu au laboratoire de Cytopathologie de l'I.N.R.A. à Saint-Christol, sous la direction de M. C. Vago qui s'est vivement intéressé à l'étude et à maintes reprises m'a consacré une partie de son précieux temps pour m'aider dans l'interprétation de résultats et me guider dans le travail. Je garde un souvenir très enrichissant et très agréable de mon séjour au laboratoire de Saint-Christol-les-Alès et c'est avec plaisir que j'adresse à M. C. Vago mes vifs remerciements et l'expression de ma profonde reconnaissance.

A M. P. P. Grassé, professeur à la Sorbonne, membre de l'Institut, qui a bien voulu prendre la direction de mes recherches et me conseiller pour la présentation de mes premières communications scientifiques, puis qui a si obligeamment accepté la présidence du jury de thèse, j'exprime ma respectueuse gratitude.

A M. A. Lwoff, professeur à l'Université de Paris, chef de service à l'Institut Pasteur, qui a été très bienveillant à mon égard et qui a bien voulu me guider dans la présentation de ma thèse, je présente mes vifs remerciements et mes sentiments respectueux.

Je réserve une mention spéciale de remerciements au Pr W. Wegorek auprès duquel j'ai effectué mes premiers débuts dans la recherche et qui a toujours continué à s'intéresser à mes travaux en France.

Je suis vivement reconnaissant à M. le Directeur général de l'Institut national de la Recherche agronomique et à M. B. Trouvelot, directeur de la Station centrale de Zoologie agricole de l'accueil qui m'a été réservé dans les laboratoires de l'I.N.R.A. et de l'aide financière qui m'a toujours été accordée.

Je prie les services de la Direction des Affaires culturelles du gouvernement français d'agréer l'expression de ma plus sincère gratitude pour la bourse d'étude qui m'a été allouée durant la plus grande partie de mes recherches en France.

Mes remerciements les plus vifs s'adressent également aux spécialistes compétents de l'I.N.R.A., aux directeurs de recherches M. M. E. Biliotti d'Antibes, et B. Hurpin de La Minière, ainsi qu'à M. le Pr P. Pesson de l'Institut national

agronomique de Paris, qui m'ont fait bénéficier de leur expérience et de leurs conseils éclairés.

J'ai contracté une dette de reconnaissance particulière à tous mes collègues et amis des laboratoires de La Minière, de Saint-Christol-les-Alès et d'Antibes, dont la cordiale sympathie m'a profondément réconforté.

Mes très sincères remerciements s'adressent d'abord à MM. D. Martouret, P. Atger, A. Burgerjon, Mlle de Barjac, G. Dusaussoy, R. Ham, G. Meynadier, J. Fosset, J. L. Duthoit, P. Robert, P. Ferron, C. Géri, S. Bourguignon, M. Fresneau, G. Biache, Mmes Amargier, Jameton et Mlle Julian, pour leur esprit de collaboration, ensuite à MM. G. Louveaux, R. Préchac, Ph. Cals, Mlle Serre, et particulièrement à Mlle Paradis, Mmes Croce et Viron qui m'ont obligeamment apporté leur concours pour la présentation de ce mémoire et à tous ceux qui m'ont amicalement prodigué le plus précieux des encouragements sur cette terre française qui m'est très chère.

INTRODUCTION

Les premières observations sur les maladies bactériennes des Insectes remontent au milieu du siècle dernier. PASTEUR (1868) met en évidence une flacherie chez les Vers à soie et METCHNIKOFF (1879) constate une infection à *Bacillus salutarius* METCH. chez *Anisoplia austriaca*.

Quelques années plus tard KRASSILTSCHIK (1893), en Russie, décrit les agents bactériens provoquant les maladies chez les larves du Hanneton, c'est-à-dire *Bacillus septicus insectorum* et *Bacillus tracheitis-sive graphitosis*. PASTEUR (1870), en créant la microbiologie, suggérait déjà l'emploi des micro-organismes pour la lutte contre les insectes nuisibles. Les premières investigations sur l'utilisation des micro-organismes contre les ravageurs ont été entreprises par METALNIKOV père et fils et CHORINE (1927, 1929, 1930, 1933, 1937). PAILLOT (1919, 1933), tout en ne demeurant pas sceptique sur l'emploi des bactéries comme moyen de lutte biologique, insiste sur l'étendue et la complexité d'une telle perspective. Après plusieurs tentatives, fructueuses ou non, d'application de lutte microbiologique, un tournant décisif est pris en 1940 avec l'isolement aux U. S. A. de la bactérie *Bacillus popilliae* DUTKY et son application contre le Hanneton japonais, *Popillia japonica*. D'autre part, les progrès de nos connaissances théoriques sur les micro-organismes entomopathogènes favorisent la création d'une nouvelle discipline scientifique appelée la pathologie des insectes et permettent d'envisager l'emploi de ces micro-organismes d'une manière plus rationnelle, et par conséquent avec plus de succès.

Jusqu'à présent, il semble bien que les résultats les plus évidents et les plus sûrs, dans le domaine de lutte microbiologique, furent enregistrés avec la bactérie *Bacillus thuringiensis*, décrite pour la première fois par BERLINER (1911, 1915) à partir des larves malades d'*Ephestia kühniella* ZELLER. Cette bactérie fut étudiée depuis par de nombreux chercheurs et utilisée en expérimentation agricole sous forme de préparations à base de spores et de toxines avec des résultats différents selon l'espèce nuisible considérée. Toutefois, actuellement la production industrielle de préparations microbiologiques à base de cette bactérie en France, aux U. S. A., en U. R. S. S., en Allemagne, en Tchécoslovaquie, constitue un pas important vers son application extensive dans la pratique agricole et dans la lutte contre les chenilles défoliatrices en forêt.

Cette lutte microbiologique dépend étroitement de conditions écologiques générales et plus particulièrement des informations fournies par les études sur la fluctuation des populations d'insectes ; ces dernières donnent de précieux éléments d'investigation sur les processus épizootiologiques et sur les facteurs écopathologiques qui les déterminent dans un biotope donné. Comme l'indique VAGO (1962) « les études épizootiologiques devraient tenir compte non seulement de la population en question mais de l'écologie et de la pathologie des autres insectes présents dans le biotope ou susceptibles d'y accéder ».

Nous nous sommes inspiré de ce point de vue dans notre étude que nous avons décomposée en deux parties distinctes : dans la première nous nous sommes efforcé d'approfondir la biologie et l'écologie du Lépidoptère *Ephestia kühniella* ZELL. et de son parasite entomophage *Nemeritis canescens* GRAV. (Ichneumonidae) ; dans la seconde partie, nous avons abordé l'étude des relations physiologiques et éthologiques entre l'infection à *Bacillus thuringiensis* et le parasitisme par *Nemeritis canescens* GRAV. chez *Ephestia kühniella* ZELL.

En effet, ce travail fut envisagé après l'observation dans un milieu naturel d'une épizootie à *B. thuringiensis* chez *E. kühniella* en présence d'une population importante de l'Hyménoptère *N. canescens* parasitant également l'hôte. Ainsi, les facteurs qui permettent le déclenchement d'une telle épizootie bactérienne, le processus d'infection et le mode d'action de *Bacillus thuringiensis* BERLINER constituèrent l'un des buts principaux de nos recherches.

PREMIÈRE PARTIE

ÉTUDE BIOLOGIQUE DU PARASITE *NEMERITIS CANESCENS* GRAVENHORST (ICHNEUMONIDAE) ET DE SON HÔTE *EPHESTIA KÜHNIELLA* ZELLER (PYRALIDAE)

CHAPITRE PREMIER

QUELQUES NOTIONS MORPHOLOGIQUES ET BIOLOGIQUES SUR *EPHESTIA KÜHNIELLA* ZELLER

1. Généralités

Ephestia kühniella ZELLER, l'hôte de l'entomophage *Nemeritis canescens* GRAVENHORST (Ichneumonidae) est un microlépidoptère de la famille des Pyralidae, qui provoque des dégâts de très grande importance économique, en s'attaquant aux farines de céréales, aux grains et à d'autres denrées comme légumes et fruits secs, biscuits, marrons, glands, chocolats, etc. (BURKHARDT, 1919 ; CANDURA, 1928 ; BEIRNE, 1952 ; OZER, 1953 ; GOLEBIOWSKA, 1956).

C'est un insecte sans diapause et son potentiel de pullulation est très grand, surtout s'il trouve des conditions de températures favorables, qui lui permettent un développement rapide. Ainsi les générations successives peuvent apparaître après 41 jours à 30°C (BRINDLEY, 1930), après 56,5 jours à 25°C (GOLEBIOWSKA, 1956), après 47,8 jours à 25°C d'après nos observations, et tous les 7 mois à 10°C (LEPIGRE, 1951).

Malgré différentes hypothèses, on ne situe pas exactement la contrée d'origine de cette espèce surtout à cause de son cosmopolitisme. La plus vraisemblable paraît être l'hypothèse de LEBEDEV (1930) selon laquelle *E. kühniella* aurait comme centre primitif de dispersion les pays d'Asie mineure, d'où l'Insecte aurait envahi les pays méditerranéens, l'Europe centrale, l'Amérique, pour être finalement propagé dans le monde entier.

Le nom courant utilisé jusqu'à présent est celui d'*Ephestia kühniella* ZELL. ; cependant, YAMVRIAS (1962) le cite comme *Anagasta* (*Ephestia*) *kühniella* ZELL. Pour commodité d'usage, comme la grande majorité d'auteurs, nous continuons d'appeler ce Lépidoptère du nom *Ephestia kühniella* ZELL.

2. L'imago

L'Insecte adulte est de couleur grise, mesure 10-12 mm de longueur (9-12 mm et 15-20 mm d'après GOLEBIOWSKA, 1956, et YAMVRIAS, 1962) et 18-22 mm d'envergure (22-25 mm d'après SORAUER, 1953).

Les ailes antérieures de teinte grise portent deux bandes plus sombres en zigzag. Les ailes postérieures sont plus larges et grisâtres. Tête petite presque ovale, les yeux

sont noirs et proéminents. La trompe est bien développée. Les antennes sont composées de 55 articles.

L'abdomen de la femelle est un peu plus large que celui du mâle, ce dernier se distingue par les valves de l'armature génitale. La femelle pour l'accouplement relève l'abdomen entre les ailes vers le haut en sortant son ovipositeur. C'est un aspect caractéristique de la femelle non fécondée.

Les papillons volent au crépuscule et la nuit, restent immobiles en cherchant les endroits les plus obscurs pendant la journée. Pendant l'immobilisation les antennes filiformes sont orientées derrière la tête et demeurent parallèles au corps ou sur les ailes antérieures.

3. Système reproducteur

Les organes génitaux de la femelle sont du type ditrysien et composés principalement de 2 ovaires, pouvant atteindre 16 mm de longueur, divisés en 4 ovarioles chacune unie au germarium vers la partie proximale des ovaires (extrémités apicales). Les vitellarium s'ouvrent à 2 oviductes qui se jettent ensuite dans l'*oviductus communis*.

Les ovaires repliés en 3 parties remplissent toute la cavité de l'abdomen et sont composés de 8 ovarioles du type méroïstique polytrophique contenant des œufs en grande proportion mûrs dès l'éclosion des papillons (Norris 1932, 1934).

La bourse copulatrice qui reçoit les spermatozoïdes, pendant la copulation, la spermathèque qui s'ouvre dans l'oviducte par le canal spiral, et les glandes accessoires font encore partie des organes génitaux de la femelle.

Chez le mâle on observe précocement une paire de testicules séparés et indépendants chez la larve de l'avant-dernier stade, mais fusionnés en un organe unique vers la fin de la vie larvaire et pendant la nymphose (Ozer, 1953) ; les canaux déférents partant de la gonade comprenant les vésicules séminales généralement remplies de spermatozoïdes, et un système de glandes annexes débouchant dans le canal éjaculateur qui se prolonge par le pénis.

4. Fécondité

Après la copulation a lieu la ponte qui s'échelonne dans le temps suivant les conditions du milieu et les différences individuelles. Ozer (1953) indique qu'elle débute généralement quelques heures après l'accouplement ce que confirment nos observations. Selon (Golebiowska, 1956) ce délai est de 6 à 8 heures, Voukassovitsch (1929) indique qu'à l'obscurité à 17°C il y a dépôt d'œufs presque immédiatement après l'accouplement et Burkhardt, (1919) observe l'influence favorable de l'obscurité sur la ponte et mentionne que le délai nécessaire au début de la ponte n'est pas un paramètre constant mais au contraire considérablement variable.

Les femelles pondent, en général, 200 à 300 œufs (Yamvrias, 1962). A 25°C et 60-80 p. 100 H. R.à l'obscurité permanente, nous avons obtenu au maximum 292 œufs d'une femelle fécondée et le rythme de ponte intense aux premiers jours (79, 62, 48 œufs pour les 3 premiers jours de ponte) décroît régulièrement (7, 9 et 3 œufs pour les 7^{e}, 8^{e} et 9^{e} jours).

Selon les auteurs (Norris, 1933 ; Voute, 1935 ; Ozer, 1953 ; Golebiowska, 1956 ; Yamvrias, 1962) le nombre d'œufs déposés est variable, dépendant de différences individuelles entre imagos, du nombre d'accouplements, de la nourriture, et de la température. (Norris, 1933) observe une moyenne de 407 œufs sur 93 femelles placées à 27°C et 422 œufs sur 183 femelles à la température ambiante du laboratoire. (Ozer, 1953) relève une grande variabilité de ponte, pour 40 couples observés le nombre des œufs pondus varie entre 14 et 420.

La durée de vie des imagos qui est liée à la fécondité varie, elle aussi, suivant les conditions du milieu, telles que la température, l'humidité, ainsi qu'avec le nombre d'accouplements et la mobilité des individus ; elle s'échelonne sur une à deux semaines dans les conditions habituelles du laboratoire, voire un mois dans certaines circonstances (Ozer, 1953 ; Yamvrias, 1962).

5. L'œuf, la larve et la chrysalide

Dès la ponte, l'œuf est de couleur blanche, brillant, qui durant le processus embryonnaire devient mat, et jaune avant l'éclosion. La surface est irrégulière à travers laquelle on peut observer l'embryon.

L'incubation dure 4-5 jours pour une température de 25°C (Yamvrias, 1962), mais varie suivant les conditions de 3 à 37 jours (Ozer, 1953) et de 4 à 14 jours d'après Balachowsky et Mesnil (1936), tandis que (Busnel, 1937) observe qu'elle était de 192 heures à 13°C, de 144 heures à 18°C et de 72 heures à 28°C.

Au moment de l'éclosion les larves d'*E. kühniella* mesurent environ 1 mm de longueur et se rendent à la recherche de nourriture. Golebiowska, (1956) indique que la larve au moment de quitter sa paroi chorionale mesure en moyenne 0,8 mm de longueur, 0,1 mm de largeur à l'endroit de la capsule céphalique.

La larve d'*E. kühniella* ayant une cuticule blanchâtre au moment de l'éclosion subit des modifications pendant sa vie larvaire en devenant jaunâtre, puis rosâtre aux derniers stades larvaires.

La couleur de la tête, des sclérites au premier et au dixième segment de la zone péristigmate, des articles des pattes thoraciques et des poils est brun clair jusqu'au brun foncé. Après chaque mue la tête est jaunâtre et translucide, et devient brun foncé aux derniers stades, comme l'a décrit Yamvrias (1962).

Suivant les conditions d'environnement, le nombre de stades larvaires varie beaucoup. Burkhardt (1919) indique 4 mues et parfois 5, s'il intervient, par exemple un refroidissement ; Brindley (1930) observe 6 mues à 30°C et 73 p. 100 H. R. ; Golebiowska (1956) mentionne 4 à 6 mues, tandis que pour Ozer (1953) elles peuvent varier entre 4 et 10, de même pour Yamvrias (1962) qui dénombre jusqu'à 9 stades larvaires et quelquefois 10 à 25°C et 75 p. 100 H. R.

Selon la méthode de mensuration des capsules céphaliques employée notamment par Brindley (1930) et Yamvrias (1962), nous avons dénombré 8 stades larvaires chez *E. kühniella*, élevé dans des conditions que nous rapportons dans la description de la technique d'élevage. Ces mesures ont été faites sur la plus grande largeur et sur la longueur entre la naissance de la suture épicraniale postérieure et le bord antérieur des mandibules.

Les observations sont effectuées dans des petites boîtes rondes en plastique,

de 4,5 cm de diamètre, dans lesquelles les larves sont placées sur une très fine couche de farine de blé supplémentée avec des facteurs de croissance sous forme de 3 p. 100 de levure.

Les résultats obtenus sont très proches de ceux de YAMVRIAS (1962), tenant compte du maintien au laboratoire de la même souche de cet Insecte, et de conditions d'élevage semblables.

TABLEAU I

*Dimension des capsules céphaliques d'*Ephestia kühniella ZELL. *aux différents stades et leur durée en jours*

(10 mesures par stade)

Stade larvaire	Durée moyenne en jours	Moyenne de la largeur en mm	Moyenne de la longueur en mm
1er	4,6	0,206	0,162
2e	4,3	0,288	0,237
3e	5,3	0,371	0,303
4e	4,8	0,459	0,414
5e	5,1	0,572	0,496
6e	4,8	0,660	0,561
7e	4,2	0,744	0,653
8e	5,2	0,851	0,749

Se rapportant aux conditions de nos élevages d'*E. kühniella*, mentionnées plus loin, la vie larvaire de cet insecte est composée de 8 stades durant en moyenne 38,3 jours et 9,5 jours pour le stade nymphal, de la formation de la chrysalide à l'émergence de l'adulte.

6. Cycle évolutif

Comme le mentionnent différents auteurs, notamment BRINDLEY (1930), BUSNEL (1937), FRAENKEL et BLEWETT (1946, 1947), GOLEBIOWSKA (1956) et YAMVRIAS (1962), la durée du cycle évolutif dépend des conditions du milieu hébergeant l'insecte pendant son évolution et plus particulièrement de la température, de l'humidité et de la nourriture.

Selon BUSNEL, la durée du cycle évolutif à une moyenne de 18°C est de 74 jours dans la farine de seigle ; GOLEBIOWSKA à 25°C et 80 p. 100 H. R. obtient une nouvelle génération en 56,5 jours ; BRINDLEY à 25°C et 73 p. 100 H. R. note une durée de 41 jours ; YAMVRIAS mentionne que, dans une farine blanche, relativement pauvre en substances de croissance, à une température de 25°C et 70-75 p. 100 H. R., l'apparition des premiers adultes a lieu 70 jours après la date de dépôt des œufs, tandis qu'en préservant les mêmes conditions et additionnant la farine blanche d'une faible proportion de levure, l'éclosion des papillons était observée à partir du 40e jour après la ponte. D'après le même auteur, lorsque les larves sont sous-alimentées, la durée de la vie larvaire est prolongée pendant plusieurs mois. D'autre

part, KÖHLER (1940) observe chez *E. kühniella*, qu'avec une nourriture copieuse, 77 p. 100 des chenilles atteignent le stade imaginal, et ce pourcentage s'abaisse pour une nourriture insuffisante, Ainsi, la nourriture et surtout les facteurs de croissance qu'elle contient sont indispensables pour assurer un développement larvaire optimum et permettre la formation normale de l'adulte, comme l'ont démontré FRAENKEL et BLEWETT (1946) ; d'après eux la levure contient ces facteurs de croissance. Ils précisent notamment que, la vitamine E est indispensable pour assurer une croissance rapide et comme facteur antioxydant ; la vitamine B ainsi que l'acide folique synthétique ont un effet bénéfique vis-à-vis d'*E. kühniella* ; l'acide linoléique est nécessaire à la formation normale des ailes, tandis que les acides arachidoniques et l'acide folique sont des facteurs importants pour assurer un développement larvaire optimum.

En appropriant la farine blanche de Beauce commercialisée en France et achetée régulièrement chez le même fournisseur d'une faible proportion de levure (3 p. 100), et en plaçant nos élevages d'*E. kühniella* à une température de 25°C et 60-80 p. 100 H. R., la durée du cycle évolutif complet était, en moyenne de 45 à 50 jours, mais parfois les premiers adultes apparaissaient entre le 40^{e} et le 45^{e} jour après la ponte.

Les durées de développements des différents stades larvaires maintenus dans les conditions mentionnées ci-dessus, semblent avoir de bonnes valeurs relatives (tabl. 1), et au total la vie larvaire de cet insecte, comprenant généralement 8 stades, est achevée dans un délai de 38,3 jours en moyenne (tabl. 1). Le stade nymphal s'effectue souvent en 9,5 jours, ce qui permet l'apparition d'une nouvelle génération en 47,8 jours. La longévité imaginale à une température de 25°C et 60-80 p. 100 H. R. est de 7 à 11 jours.

La durée du cycle évolutif d'*E. kühniella* est considérablement plus longue à 20°C, mais surtout à 15°C. Ainsi, à 20°C, la durée larvaire et celle de la chrysalidation sont respectivement de 56 jours et de 18 jours, soit un total de 74 jours pour l'apparition des premiers imagos ; à 15°C, ces durées sont de 137 jours et de 34 jours soit un total de 171 jours jusqu'à l'émergence des papillons.

7. Technique d'élevage

Ephestia kühniella ZELL., insecte sans diapause peut être élevé et maintenu dans les conditions du laboratoire d'une façon permanente pendant toute l'année, et sans difficultés particulières.

L'imago n'a pas besoin de s'alimenter, n'est pas soumis aux exigences du photopériodisme, et l'élevage est peu encombrant. Dès l'émergence de l'adulte, la plupart des œufs sont mûrs dans les organes génitaux.

Pour obtenir un élevage aussi homogène que possible, nous avons tenu compte des résultats précédemment obtenus au laboratoire de La Minière par YAMVRIAS : nous avons utilisé des œufs de 24 heures qui sont placés après dénombrement dans des boîtes aérées, en matière plastique de dimension 20 cm × 12 cm × 8 cm, contenant 250 g de farine additionnée de 3 p. 100 de levure pour 200-300 œufs et disposés dans l'étuve à 25°C, 60-80 p. 100 H. R. à l'obscurité.

Afin d'approvisionner les expériences en quantité suffisante de larves et, par conséquent, pour obtenir régulièrement des œufs, les imagos des deux sexes étaient

placés dans des pondoirs en matière plastique de dimension 15 cm × 9 cm × 5,5 cm. Le fond du pondoir est couvert de grillage fin, afin de permettre le passage des œufs pondus sur le support plastique installé en-dessous selon une méthode mise au point par BURGERJON et YAMVRIAS.

L'obtention échelonnée d'adultes, et de certains stades larvaires, en quantité suffisante, pour les besoins expérimentaux, était assurée par le renouvellement des élevages en tenant compte de la durée du cycle évolutif de l'Insecte.

8. Parasites d'*Ephestia kühniella* Zell. observés dans les élevages

Afin d'éviter une contamination quelconque des élevages, des précautions sanitaires doivent être constamment prises : désinfection du matériel plastique utilisé ; contrôle sous loupe binoculaire des œufs d'*E. kühniella* avant leur mise en place dans le milieu d'élevage, afin d'examiner s'il y a présence d'œufs d'acariens (*Tyroglyphus farinae*) et leur élimination immédiate ; l'examen macroscopique des élevages en cours, assurent le développement de l'insecte, sans surprises désagréables.

Certains prélèvements d'insectes effectués périodiquement au moulin de Bures-sur-Yvette (Seine-et-Oise) pour renouveler notre matériel, ont contaminé quelques lots de nos élevages dont la mortalité s'élevait à environ 80 p. 100. L'examen des frottis des larves et nymphes malades et mortes provenant des élevages et des prélèvements a montré la présence d'une grégarine que GHELELOVITCH (1947, 1948) déterminait comme *Coelegregarina ephestiae*, et d'une nosémose particulièrement dangereuse. Une quanrantaine est donc absolument indispensable avant d'introduire dans les élevages expérimentaux les insectes provenant de récoltes extérieures.

Également dans le moulin évoqué, nous avons pu observer une épizootie naturelle à *Bacillus thuringiensis* sur *Ephestia kühniella* (KURSTAK, 1962) relatée dans la deuxième partie de ce travail, ainsi que deux parasites entomophages : *Habrobracon brevicornis* WESM (Braconidae) très peu nombreux, et en grande quantité l'Hyménoptère *Nemeritis canescens* GRAV. (Ichneumonidae), dont l'étude biologique et écologique fait l'objet du chapitre suivant.

CHAPITRE II

ÉTUDE BIOLOGIQUE DE *NEMERITIS CANESCENS* GRAVENHORST (*ICHNEUMONIDAE*) PARASITE ENTOMOPHAGE D'*EPHESTIA KÜHNIELLA* ZELLER (*PYRALIDAE*)

1. Généralités : position systématique, répartition géographique et principaux hôtes

L'insecte entomophage *N. canescens* est un Ichneumonide endoparasite aussi cosmopolite que son hôte *E. kühniella* dont la présence peut être observée à peu près dans tous les moulins et entrepôts infectés.

Plusieurs auteurs ont contribué à mettre en évidence certains aspects biologiques et écologiques de cet Hyménoptère parmi lesquels nous citerons KRÜGER (1921) VOÏNOVSKAÏA-KRIEGER (1927), CANDURA (1928, 1937), DIAMOND (1929), DAVIAULT (1930), RIETRA (1932), BELING (1932, 1934), MAYER (1934), AHMAD (1936), HASE (1937), SPEICHER (1937), NARAYANAN (1939), SIMMONDS (1943). D'autres auteurs l'ont utilisé comme insecte-test de laboratoire pour diverses études, THORPE (1938), THORPE et JONES (1937), SALT (1956, 1957, 1964), FLANDERS (1958, 1959, 1963), TAKAHASHI (1959), FISHER (1961, 1962).

La nouvelle nomenclature de cet Ichneumonide sous le nom de *Nemeritis canescens* GRAVENHORST date de 1887 par C. THOMPSON (*Opuscula Entomologica*) qui introduit l'espèce *Campoplex canescens* décrite par GRAVENHORST en 1829 dans le genre *Nemeritis*, quoique encore actuellement certains auteurs anglo-saxons lui donnent le nom de *Idechthis canescens* GRAV. (THOMPSON, 1957) ou de *Exidechthis canescens* GRAV. (FLANDERS, 1963) et TOWNES et *al.* (1961) l'appelent *Devorgilla canescens* GRAV.

BURKHARDT (1919) observe un Icheumonide parasite d'*Ephestia kühniella* ZELL. auquel il donne deux noms : *Omorgus frumentarius* ROND. et celui de la nouvelle nomenclature *Nemeritis canescens* GRAV. aujourd'hui couramment utilisé.

D'après SCHMIEDEKNECHT (1908, 1911) la position systématique de l'Hyménoptère *Nemeritis canescens* GRAV. se présente de la façon suivante :

Famille.....	Ichneumonidae.
Sous-Famille.	Ophioninae.
Tribu	Campoplegini.
Genre	*Nemeritis* HOLM.
Espèce	*Nemeritis canescens* GRAV.

Son lieu d'origine semble être le même que celui de ses hôtes et surtout d'*E. kühniella* : d'après l'hypothèse de LEBEDEV (1930) il s'agirait de l'Asie mineure, d'où l'insecte-hôte aurait envahi les pays méditerranéens, l'Europe centrale, l'Amérique, pour être finalement propagé dans le monde entier. KRÜGER (1921) pense que l'Inde ou l'Amérique pourrait être le centre primitif de *N. canescens* ce qui laisse beaucoup d'incertitude sur le lieu d'origine de l'espèce dont la détermination est rendue d'autant plus difficile de nos jours à cause de sa répartition cosmopolite.

Selon DAVIAULT (1930) *N. canescens* est en France un des principaux Hyménoptères parasites d'*E. kühniella* dont les chenilles semblent être les hôtes préférés. DIEUZEIDE (1926) observe que *N. canescens* peut, dans une certaine mesure freiner une multiplication trop rapide du ravageur *E. kühniella*.

Mais *N. canescens* est également parasite des hôtes suivants :

Ephestia cautella WALK	CHITTENDEN (1897), FROGGATT (1912), MYERS (1929), DAVIAULT (1930), TAKAHASHI (1959), BOSELLI (1933).
Ephestia elutella HB.	DAVIAULT (1930), ARKHANGELSKII (1931), USTINOV (1932), REED (1935), RICHARD et WALOFF (1946).
Ephestia figulilella GREG.	DONOHOE et BARNES (1934).
Ephestia sericarum SCOTT. ...	FISHER (1961).
Galleria mellonella L.	RICHMOND (1925), SALT (1964).
Achroea grisella FABR.	HASE (1937).
Plodia interpunctella HB.	CHITTENDEN (1897), WHITING (1928), CANDURA (1928), DUNHAM (1929), ARKHANGELSKII (1931), HAMLIN et *al.* (1931), VOUKASOVITCH (1932).
Homoeosoma nebulella SCHIFF	THOMPSON (1957).
Nemapogon granella L.	THOMPSON (1957).
Nygmia phaeorrhoea DON. ...	THOMPSON (1957).

2. Matériel et méthodes

Les recherches sont effectuées dans des conditions du laboratoire, tandis que les observations sur le développement du parasite *N. canescens* et de son hôte *E. kühniella* dans les conditions naturelles, sont faites dans les moulins de la région parisienne, en particulier celui de Bures-sur-Yvette (Seine-et-Oise), d'où périodiquement le matériel entomologique est prélevé.

L'élevage du parasite *N. canescens* dépend surtout du stade des chenilles, de son hôte et des conditions d'environnement, comme nous le démontrons plus loin dans l'étude sur sa biologie. Ainsi les chenilles des deux derniers stades larvaires placées dans des boîtes en matière plastique (20 cm × 12 cm × 8 cm) sur une couche de 150 g de farine blanche de Beauce commercialisée en France, sont mises en contact avec les imagos du parasite. Les boîtes possèdent un système d'aération et d'introduction du matériel expérimental (fig. 1).

Le parasite est nourri avec une solution d'eau sucrée de 10 p. 100, ce qui permet une prolongarion considérable de sa longévité imaginale. Plusieurs lots de 10 imagos

N. canescens en présence de 200 chenilles d'*E. kühniella*, à 25°C, 60-80 p. 100 H. R. et de photopériode de 16 heures assurent continuellement nos besoins en matériel entomologique.

Le rapport numérique parasites/hôtes de l'ordre de 10/200 a été établi à la suite d'essais préliminaires. Parmi différents rapports il est apparu le plus intéressant car il permet l'obtention d'une descendance homogène, saine et aussi nombreuse que possible de *N. canescens*. Ce rapport standard parasites/hôtes a servi pour tous nos élevages de *N. canescens*.

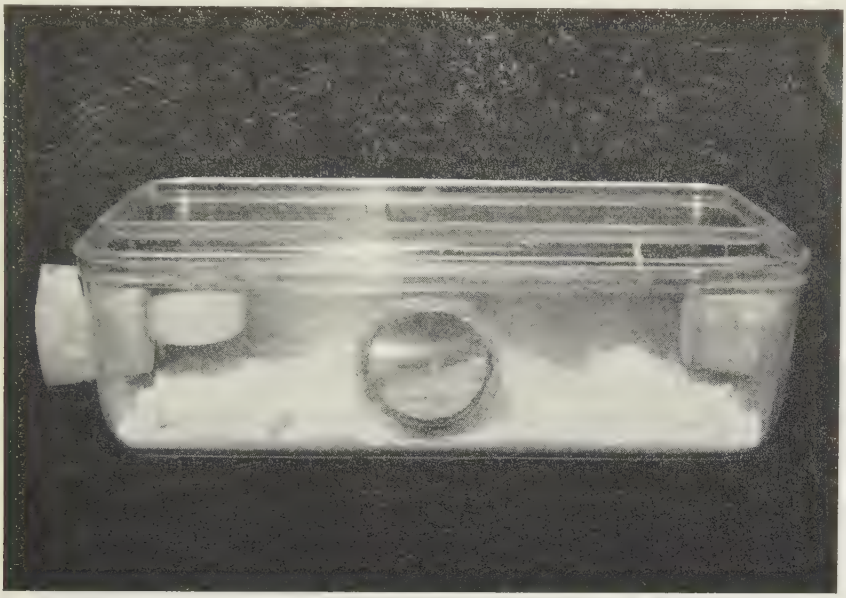


FIG. 1. — *Dispositif d'élevage de* N. canescens

L'importance du rapport numérique parasites/hôtes est primordiale dans le cas de *N. canescens* du fait de l'existence du superparasitisme et des caractères de notre deuxième partie du travail. On était amené à choisir un tel nombre de parasites pour une population hôte donnée qui ne provoquerait pas de conséquences immédiates, par exemple, la mort de l'hôte à cause d'un nombre exagéré de piqûres par la tarière des parasites.

Le rapport le plus élevé de 10 parasites entomophages pour 100 chenilles restant ensemble pendant 48 heures, et employé dans la deuxième partie de l'étude n'a pas d'effets de ce genre. Ainsi des nombres décroissants (10, 5, 1) de parasites ont pu être mis au contact de 100 hôtes. C'est seulement dans l'étude portant sur le superparasitisme de *N. canescens* que 25 parasites étaient au contact de 200 chenilles, mais ayant constaté un faible pourcentage de mortalité de ces dernières dû au nombre élevé de perforations de l'hôte avec la tarière, ce rapport a été strictement réservé à cette partie d'études.

Nous avons maintenu deux souches du parasite, une de Bures-sur-Yvette et l'autre de Versailles, datant de mars et avril 1962.

Les méthodes employées pour l'étude de la biologie de *N. canescens* sont décrites respectivement suivant le sujet traité dans ce présent travail.

N. canescens étant un Hyménoptère sans diapause il peut être élevé toute l'année au laboratoire. L'hôte comme son parasite présente de nombreuses générations annuelles, ce qui en facilite l'étude permanente. A + 25°C, 60-80 p. 100 H. R. et pour une photopériode de 16 heures, une nouvelle génération du parasite est obtenue tous les 22 jours en moyenne.

A partir du 21 mars 1962, jusqu'au 3 janvier 1964, 30 générations se sont succédé à + 25°C. Ceci représente au total la possibilité d'obtenir 16 générations par an du parasite *N. canescens* pour 8 seulement de l'hôte *E. kühniella* élevé dans les mêmes conditions.

A + 20°C la durée du cycle évolutif du parasite est beaucoup plus longue, 36 à 41 jours, ce qui donne 9 générations annuelles et à + 15°C la durée du développement de *N. canescens* étant de 135 à 150 jours on obtient seulement 2 à 3 générations.

Dans les conditions naturelles, dans certaines conditions climatiques régionales, la température est souvent inférieure à + 15°C et on ne constate pas d'émergence du parasite. Pendant cette période, le froid provoque un ralentissement voire un arrêt de développement hivernal de *N. canescens*, celui-ci reprend son évolution au moment de l'élévation de la température printanière, pour apparaître au mois d'avril ou mai, et c'est seulement pendant les mois d'été que le parasite trouve des conditions favorables à son développement.

De notre étude sur la biologie de *N. canescens*, traitée dans ce chapitre, il apparaît que si le parasite s'attaque effectivement de préférence aux deux derniers stades larvaires de son hôte, il peut parfois parasiter les stades inférieurs comme le 6e et très rarement le 5e. D'autre part, les chrysalides en voie de formation, dont la chitine est encore fraîche, sont également parasitées avec succès.

Si le parasite *N. canescens* est privé des stades préférés de son hôte, ou privé d'hôtes totalement pendant quelques jours, alors il lui arrive de parasiter les chenilles du 5e stade et même beaucoup plus rarement celles du 4e stade. D'après nos observations le parasite n'achève pas son évolution larvaire dans des chenilles trop jeunes du 4e stade par manque de nourriture. D'autre part, ces chenilles jeunes, semblent mal supporter plusieurs piqûres de l'entomophage et souvent meurent des suites de ces traumatismes. On doit ajouter que ce phénomène peut se produire également pour le cas de chenilles âgées lorsqu'il y a un superparasitisme trop élevé.

Il était alors évident que pour les besoins de nos expériences ce soient les stades larvaires d'*E. kühniella* de réceptivité optimale pour le parasite qui furent choisis, c'est-à dire les deux derniers stades de l'hôte.

Pour faciliter le travail deux classes de ces chenilles ont été constituées. Une de 20 à 30 mg correspondant au 7e stade larvaire et comprenant parfois des individus bien développés du 6e stade ; l'autre classe, la deuxième de 30 à 40 mg et correspondant au dernier stade larvaire d'*E. kühniella*.

La constitution de ces deux classes de larves-hôtes d'*E. kühniella* facilitait techniquement l'étude des relations existantes entre *E. kühniella* d'une part, et *B. thuringiensis* d'autre part.

Cette étude fait l'objet de la deuxième partie de ce travail dans laquelle seront étudiées également les conséquences d'une intoxication à *B. thuringiensis* sur la survie, la descendance et le potentiel parasitaire de *N. canescens*.

3. Comportement de ponte de *Nemeritis canescens* Grav.

La description morphologique de l'imago *N. canescens* est l'objet d'une étude détaillée de la part de KRÜGER (1921) ainsi il serait superflu de la répéter dans ce travail, cependant nous avons remarqué que, la taille et certaines caractéristiques observées sur le corps, comme la pigmentation changeante de l'abdomen sont parfois variables d'un individu à l'autre ce qui semblerait résulter de déficiences alimentaires dues à un superparasitisme fréquent chez cette espèce. Ainsi nous avons observé des malformations d'ailes ou d'antennes et des réductions de taille chez certains imagos émergés dans ces conditions.

Rappelons que DAVIAULT (1930) a également observé des variations de taille et de divers caractères du corps qu'il ne décrit d'ailleurs pas, sous l'effet de la température et de carences alimentaires ; tandis que SIMMONDS (1943) impute les variations de taille aux effets de superparasitisme. Nous reviendrons sur ce sujet dans l'étude concernant le superparasitisme de *N. canescens*.

Nous avons vu que, dès l'émergence, *N. canescens* est physiologiquement apte à déposer ses œufs dans le corps de chenilles d'*E. kühniella* ZELL., arrivées au terme de leur croissance. Dans les premières minutes de sa vie imaginale, le parasite se porte à la recherche de l'hôte et il déploie une grande activité de ponte. Des observations semblables sont mentionnées par AHMAD, BELING, NARAYANAN et SIMMONDS, ce dernier auteur affirmant qu' « à l'émergence les femelles pondent immédiatement s'il y a des hôtes » ; au contraire VOÏNOVSKAÏA-KRIEGER observe le dépôt des œufs par les femelles seulement 24 heures après l'émergence.

En général le parasite est très vif, mais son comportement est influencé en grande partie par les conditions extérieures : à 25°C, et à 20°C son activité est trépidante et presque incessante, par contre à 15°C pendant sa longue existence il reste très peu vigoureux, et ses actes de ponte se produisent à de rares intervalles.

Dans les conditions de nos expériences (+ 25°C) son activité se manifeste par des déplacements continuels, interrompus parfois par l'immobilisation pouvant être interprêtée comme un « repos » pendant lequel il présente une rigidité caractéristique déjà indiquée chez d'autres Hyménoptères parasites par GRASSÉ (1942).

Le comportement de ponte de *N. canescens* étant fixé dès l'émergence, en général, ne subit pas de modifications importantes dans les conditions normales. La femelle recherche l'hôte pour le dépôt de l'œuf en parcourant l'enceinte dans laquelle elle se trouve, et prospectant énergiquement avec ses antennes frémissantes et sa tarière le substrat infecté par *E. kühniella* (fig. 2). Dès qu'elle perçoit l'hôte par les extrémités de ses antennes elle le localise par quelques coups de sonde avec la tarière. A ce moment, elle l'embrasse rapidement avec ses pattes, s'il est accessible, recourbe son abdomen vers le bas en lui faisant prendre une position presque verticale, puis elle dégage la tarière des valves qu'elle enfonce très vivement soit à travers la boulette de farine, soit à travers la paroi du cocon contenant l'hôte, ou directement dans le corps de la chenille (fig. 3).

La tarière est très rapidement retirée après le dépôt d'un seul œuf, après chaque acte réussi. Toute l'opération de dépôt de l'œuf s'effectue en quelques secondes sans immobilisation préalable, cependant un bref moment après la ponte le parasite se consacre aux fonctions de nettoyage de la tarière avec ses pattes postérieures, et

FIG. 2. — *Localisation de l'hôte* E. kühniella *par* N. canescens *à l'aide des antennes et de la piqûre de sondage avec la tarière*

FIG. 3. — *Introduction de la tarière de* N. canescens *dans le corps d'une chenille d'*E. kühniella *n'ayant pas tissé de cocon*

de ses antennes avec les pattes antérieures. La tarière est nettoyée chaque fois après une tentative de ponte réussie et les antennes beaucoup plus souvent. Cependant nous n'avons jamais constaté de comportement alimentaire de *N. canescens* lié au comportement de ponte, comme cela a été rapporté pour de nombreux Hyménoptères, car à aucun moment nous n'avons vu de femelles perforer un hôte et immédiatement après se retourner pour absorber de l'hémolymphe perlant de la blessure du fait de l'insertion de la tarière ni pendant le nettoyage de celle-ci.

En conclusion on peut distinguer dans le comportement de ponte de *N. canescens*, une phase initiale de prospection antennaire complétée par une séquence d'introduction de la tarière sans dépôt d'œuf. Cette phase doit correspondre à un processus sensoriel de localisation de l'hôte. Elle est suivie d'une deuxième phase au cours de laquelle se manifeste le réflexe de dépôt de l'œuf dans le corps de l'individu choisi par enfoncement rapide de la tarière.

Enfin, une troisième phase est caractérisée par le nettoyage de la tarière retirée du corps de l'hôte parasité.

a) *Effet chimiotactique de la soie et stades larvaires de l'hôte réceptifs à la ponte du parasite*

En fait, les différentes séquences de ponte que nous venons de distinguer paraissent succéder à un comportement perceptif dont certains aspects sont traités par Chauvin (1956).

Cet auteur distingue :

1° les chimiotropismes ou attractions de nature sexuelle conduisant l'insecte vers un animal de la même espèce ;

2° l'attraction d'un parasite par son hôte ;

3° les innombrables tropismes orientant l'insecte vers les végétaux ou les produits en décomposition qui lui servent d'aliments ;

4° ou bien encore les tropismes de ponte.

Dans le cadre de notre étude, nous sommes spécialement intéressé par les chimiotropismes parasitaires et de ponte.

Labeyrie (1960) dans l'étude relative à la sélection entre hôtes d'âges différents démontre chez l'Ichneumonidae *Diadromus* sp., parasite d'*Acrolepia assectella*, l'attractivité provoquée par la structure et l'état de la soie puisque « plus des deux tiers des œufs sont pondus dans les cocons formés depuis peu », tandis que Chauvin (1956) observe que les *Habrobracon juglandis* suivent approximativement la trace des chenilles d'*Ephestia* qu'ils parasitent. Par ailleurs, Simmonds (1943) dans l'étude sur le superparasitisme de *N. canescens* à 25°C et 75 p. 100 H. R. conclut que « les dimensions de larves d'*E. kühniella* acceptées comme hôte sont variables, mais la préférence semble être donnée à celles qui ont tissé un cocon avant de se nymphoser ». Ces observations concordent avec celles de Daviault (1930) et de Beling (1932), le premier indiquant que « la femelle recherche pour pondre ses œufs des chenilles rendues au terme de leur croissance, ayant tissé leur cocon, ou de jeunes nymphes dont la chitine n'étant pas de consistance trop dure, permet la pénétration de la tarière ».

Ainsi ces auteurs mettent en relief le rôle de la soie dans le chimiotropisme de ponte, mais c'est surtout MAYER (1934) qui lie le tissage abondant de l'hôte au comportement de ponte de *N. canescens*, et en partie BELING (1932) qui parle de l'effet olfactif stimulant de la soie. MAYER démontre même un autoparasitisme chez *N. canescens* dont les larves de sa propre espèce sont enveloppées de réseaux de tissage d'*E. kühniella*. Nous nous sommes alors proposé de voir dans quelle mesure, dans nos conditions d'expérience, les chimiotropismes parasitaires chez *N. canescens* étaient affectés par la soie fraîchement produite par les glandes salivaires de l'hôte.

Au total 20 chenilles d'*E. kühniella* ayant formé leur cocon depuis moins de 24 heures ont été comparées, placées une par une à une distance de 1 cm de celle ayant tissé leur cocon depuis 72 heures environ. Cinq femelles de *N. canescens* y séjournaient en contact pendant 16 heures.

Les dissections des hôtes effectuées après 3 jours de contact hôte-parasite nous ont permis de retrouver 47 larves de *N. canescens* dans les chenilles entourées de soie fraîche contre 24 larves seulement dans l'hôte entouré de soie ancienne, c'est-à-dire deux fois moins. Par ailleurs, nous avons observé des séquences de ponte à travers des cocons vides d'*E. kühniella*, sans dépôt d'œufs.

Comme chez *Diadromus* sp. (LABEYRIE, 1960), le tissage abondant de la soie par les stades larvaires avancés d'*E. kühniella* détermine en partie leur réceptivité à la ponte du parasite. Nos observations indiquent que l'entomophage pour déposer ses œufs choisit de préférence les chenilles de l'avant-dernier stade de son hôte et parfois les chrysalides très récentes enveloppées dans leur cocon soyeux.

Dans le cas de parasitisme de chrysalides, à l'intérieur de celles-ci le parasite se développe apparemment sans difficulté, néanmoins dans ce développement furent observées certaines anomalies que nous signalerons plus loin. Il est de règle fréquente que, vers la fin de l'évolution larvaire de *N. canescens* à l'intérieur d'une chrysalide, celle-ci éclate sous l'effet de la croissance du parasite (fig. 4) ; dans le cas contraire, si la chrysalide reste indemne, l'imago entomophage se heurte à de grandes difficultés d'émergence et souvent échoue dans ses tentatives de dégagement complet (fig. 5 et 6).

b. *Superparasitisme*

Par superparasitisme nous comprenons ici au sens de SMITH (1916, 1929), qui est généralement accepté, le fait qu'un individu-hôte puisse héberger exceptionnellement pendant un certain temps plusieurs individus de la même espèce d'un parasite dont un seul évolue habituellement dans le corps d'un hôte.

Il existe plusieurs travaux sur le problème de superparasitisme : ULLYETT (1936) sur *Microplecton fuscipennis* Z., LLOYD (1938) sur *Ooencyrtus kuwanae* HOW., ROSENBERG (1934) sur le superparasitisme chez *Ascogaster quadridentatus* WESM., LABEYRIE (1960) sur la multiplication de *Diadromus* sp., BILIOTTI et DELANOUE (1959) dans l'étude d'*Opius concolor* SZEPL. et surtout celui de SALT (1934) sur *Trichogramma*, desquels il apparaît que le comportement de ponte de certaines espèces peut présenter différents degrés de discrimination et de rétention qui font défaut chez d'autres espèces.

Il est généralement admis que la possibilité chez un parasite d'éviter dans une certaine mesure un hôte déjà parasité pour pondre dans un hôte sain est nommée discrimination, tandis que la rétention d'œufs se produit généralement en absence

d'hôtes et après le dépôt de l'œuf, mais dans ce dernier cas, elle est de courte durée.

Les facteurs gouvernant les phénomènes de discrimination et de rétention, donc du superparasitisme sont nombreux et nous en évoquerons quelques-uns ; toutefois,

FIG. 4. — *Éclatement de la chrysalide d'*E. kühniella *dû à la croissance larvaire de* N. canescens

FIG. 5 et 6. — *Sortie difficile de* N. canescens *d'une chrysalide étant restée intacte durant la croissance larvaire du parasite ; l'imago échoue souvent dans ses tentatives de dégagement*

l'état physiologique de l'animal, la pression des œufs dans les organes génitaux surtout en absence d'hôtes, les tropismes, la température etc. en font une question complexe dont les diverses combinaisons possibles ont été envisagées par SIMMONDS (1943).

Salt (1934) a trouvé pour le parasite *Trichogramma* que la femelle peut parfaitement faire la descrimination entre un hôte sain et un hôte qui a été déjà parasité, soit par le même individu ou par un autre femelle de la même espèce. Il y a donc absence du superparasitisme bien que la rétention soit imparfaite.

Pour Ullyett (1926, 1953) « la maturation des œufs dans les ovaires provoque une urgence physiologique » et chez *Microbracon hebetor* say : « le besoin physiologique de ponte l'emporte apparemment sur la rétention observée aux plus hautes densités ».

Labeyrie (1960) en étudiant l'action stimulatrice de l'hôte *Acrolepia assectella* Z. sur la ponte de *Diadromus* sp. indique que dans le cas de privation d'hôtes durant 2 à 3 jours « l'émission quotidienne d'œufs est alors deux fois plus importante que chez les femelles pourvues en hôtes normaux tous les jours ».

La pression ovarienne paraît être l'une des principales causes du superparasitisme ; ainsi, Simmonds (1956) pour *Spalangia drosophilae* ash. indique « qu'il est raisonnable de déduire de toutes les expériences que la hâte de pondre est grandement gouvernée par la pression des œufs mûrs dans les oviductes ».

Le superparasitisme de *N. canescens* est mentionné par plusieurs auteurs (Voïnovskaïa-Krieger (1927), Candura (1928), Whiting (1928), Daviault (1930), Beling (1932), Ahmad (1936), Simmonds (1943)). Parmi eux Voïnovskaïa-Krieger observe jusqu'à 15 œufs et Beling 27 larves et 3 œufs de *N. canescens* dans une seule chenille d'*E. kühniella*.

Simmonds évoquant l'existence du superparasitisme d'*E. kühniella* par *N. canescens* montre que chez ce dernier le rythme d'émission d'œufs n'est pas régulier au cours de la journée, et varie beaucoup d'un individu à l'autre. Il pense également que la femelle peut émettre un nombre considérable de ses œufs dans des hôtes déjà parasités mais accorde à *N. canescens* une faible disposition à éviter le superparasitisme.

Narayanan (1939) reconnaissant la présence du superparasitisme de *N. canescens* émet l'opinion que les femelles de cet Hyménoptère en absence d'hôtes sont capables de pondre dans les pupes de leurs propres espèces. Des effets semblables sont rapportés par Thorpe et Jones (1937). Comme ces auteurs, mais sans constater d'autoparasitisme, nous avons vu à plusieurs reprises, le parasite prospectant avec ses antennes et sa tarière les pupes de sa propre espèce enveloppées dans des cocons soyeux d'*E. kühniella*.

Nos expériences du laboratoire à 25°C et 60-80 p. 100 H. R. consistaient à voir dans quelle mesure les facteurs ci-dessus évoqués interviennent dans le comportement de ponte et surtout dans le phénomène de superparasitisme de *N. canescens*.

D'abord, nous avons procédé à des dissections de chenilles d'*E. kuhniella* provenant de nos élevages normalisés (10 parasites pour 200 chenilles) et parasitées durant 4 jours par les femelles de *N. canescens*. Dans ces conditions, et pour ce rapport numérique parasites/hôtes, la présence de plusieurs larves (voir fig. 7) et œufs du parasite dans la cavité générale de l'hôte était de règle fréquente, avec un maximum de 7 jeunes larves et 2 œufs de *N. canescens* dans une seule chenille d'*E. kühniella* Ce nombre peut être encore plus élevé dans le cas d'un rapport de 25 parasites pour 200 hôtes puisque les dissections nous ont révélé au maximum 9 jeunes larves et 6 œufs de *N. canescens* dans un seul hôte.

Les taux de superparasitisme sont très différents non seulement suivant les rap-

ports des densités numériques relatives parasites-hôtes, mais aussi en fonction de l'échelonnement chronologique du nombre d'œufs déposés dans un seul individu : dans nos lots d'expériences constitués par 10 ou 25 parasites pour 200 chenilles pendant 4 jours, nous avons dénombré de 0 à 15 œufs déposés par individu-hôte.

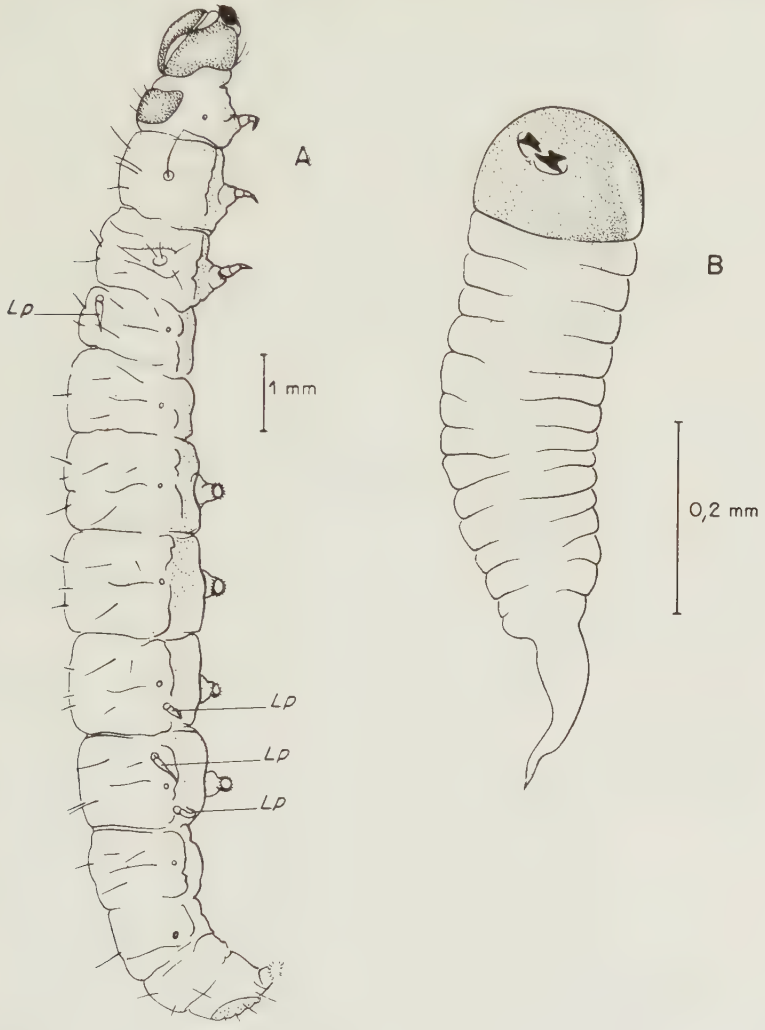


Fig. 7. — A) *Chenille d'*E. kühniella *parasitée par quatre larves primaires* (*Lp de* N. canescens
B) *Larve primaire de* N. canescens *du type caudé*

Une deuxième série d'observations directes portant sur la répartition de ponte du parasite dans le corps de l'hôte nous fait croire que le dépôt des œufs est effectué sans choix marqué et très vraisemblablement lié, d'une part aux effets chimiotropiques de la soie, et d'autre part à la pression des œufs dans les organes génitaux du parasite. En effet, les dissections de l'appareil génital de femelles de *N. canescens*, dès leur émergence (voir plus loin étude point 7), révèlent une cinquan-

taine d'œufs mûrs dans ces organes, dont la moitié descendue dans les oviductes attend d'être émise. Cette « pression ovarienne » selon LLOYD (1938), est d'autant plus évidente, si la femelle de *N. canescens*, dès sa sortie, reste isolée de son hôte pendant un certain délai, comme nous le démontrons plus loin.

Si ces facteurs semblent jouer incontestablement un rôle dans le comportement de ponte de N. *canescens*, il est vrai que, à certains moments, le parasite semble être capable d'éviter le superparasitisme, mais cette capacité est de courte durée. En effet, nous avons observé que l'hôte fraîchement parasité pouvait être superparasité par une autre femelle dans un délai ne dépassant pas 25 minutes ; dans d'autres cas le même parasite revenait déposer un autre œuf dans l'individu-hôte dans lequel il avait déjà précédemment pondu sans avoir parasité d'autres chenilles. Ce délai pendant lequel le parasite est susceptible de discrimination fut appelé par SIMMONDS (1943) « immunité temporaire conférée à l'hôte par la ponte ».

On sait, et nous l'avons également constaté, que du fait du superparasitisme, il n'émerge qu'un seul imago de *N. canescens* d'un hôte *E. kühniella* superparasité. En outre, il peut se produire parfois, qu'un superparasitisme excessivement fort provoque la mort prématurée de l'hôte avant qu'une des larves parasites ait pu achever son développement ; la mort résulte des traumatismes dûs au très grand nombre de blessures faites par la tarière au moment de la ponte.

Indépendamment de la perte considérable de parasites, le superparasitisme prolonge la durée du développement du survivant comme l'a déjà constaté en 1943 SIMMONDS. Nos observations ont confirmé que la prolongation du cycle évolutif de l'entomophage pouvait être de 4 à 6 jours.

D'autre part, nous avons observé que dans ces conditions certains imagos de *N. canescens* présentent soit une diminution de la taille de l'insecte ou bien plus rarement des malformations de certains organes.

Ainsi en ce qui concerne le phénomène de superparasitisme, la confrontation de nos observations avec les résultats obtenus par d'autres auteurs nous suggère les remarques suivantes pour le cas de *N. canescens*.

1° il y a un superparasitisme fréquent, dont l'intensité dépend du rapport des densités numériques parasites/hôtes ; l'augmentation du nombre d'hôtes en contact de parasite diminue le superparasitisme mais ne l'élimine pas complètement ;

2° la répartition de la ponte du parasite résulte plutôt du hasard et elle semble être liée d'une part à la « pression ovarienne » des œufs mûrs groupés dans les oviductes et d'autre part, aux effets chimiotropiques de la soie tissée par l'hôte ;

3° la légère tendance à éviter le superparasitisme dans certains cas par *N. canescens* est de courte durée et suit le moment après le dépôt de l'œuf ; en présence d'hôtes la rétention atteint à ce moment son maximum tandis que le délai pendant lequel le parasite est susceptible de discrimination pourraît être dû d'après SIMMONDS (1943) à « l'immunité temporaire conférée à l'hôte par la ponte ».

4. Cycle évolutif de *Nemeritis canescens* Grav.

Comme nous l'avons observé et d'après les indications de différents auteurs, la durée du cycle évolutif de *N. canescens* est liée aux conditions d'environnement sans négliger certains facteurs endogènes comme le superparasitisme.

a) *Œuf et larve*

L'œuf de petite taille, blanc mat, introduit dans la cavité générale de l'hôte, achève son développement embryonnaire dans les premières 48 heures dans nos conditions d'expérience de 25°C et 60-80 p. 100 H. R.

A l'éclosion la jeune larve est d'une forme allongée et cyclindrique et présente un prolongement caudal dans l'axe de son corps (fig. 7) ; située dans la cavité générale de l'hôte au début de son développement, elle se développe aux dépens du tissu adipeux seulement, permettant à la chenille de vivre pendant quelques jours. Plus tard, elle s'attaque aux autres organes provoquant la mort de l'hôte.

La larve primaire, du type caudé (d'après la classification de larves d'Hyménoptères de Clausen, 1940) possède une paire de mandibules à dents pointues ; le système trachéen bien développé ; on remarque le tube digestif rempli de substance vert jaunâtre provenant du vitellus de l'œuf, tandis que les glandes salivaires sont situées latéralement de chaque côté du tube digestif et se réunissent ventralement en un tube unique débouchant dans la cavité buccale.

La larve parasite subit quelques mues pendant sa croissance, la conduisant à cinq stades larvaires selon Voïnovskaïa-Krieger (1927) ; du fait de l'allométrie négative de croissance entre la partie postérieure caudée et le reste du corps, le prolongement caudal disparaît progressivement au point de n'être plus reconnaissable au stade final (fig. 8). La larve modifiée et arrivée au terme de sa croissance mesure de 5,4 à 5,8 mm de longueur sur 1,65 à 1,85 mm de largeur. Au terme de son évolution, la larve du parasite se nymphose (fig. 9, 10 11) pratiquement toujours à l'intérieur de la dépouille de son hôte, en tapissant celle-ci d'une couche de soie en forme de cocon, et il en est de même pour les cas de nymphose à l'intérieur des cocons soyeux de l'hôte (fig. 12).

De l'oviposition jusqu'au début de la nymphose, il faut compter un délai de 12 à 13 jours à + 25°C, puis 10 à 11 jours à partir de ce moment jusqu'à l'émergence de l'imago, soit en moyenne un total de 22 jours pour le cycle évolutif complet. Aux températures moins élevées, à + 20°C, la durée du cycle évolutif est de 36 à 41 jours et à + 15°C elle est de 135 à 150 jours.

Simmonds (1943) indique qu'à 25°C et 75 p. 100 H. R. la durée entre la ponte et l'émergence du parasite est de 21,5 jours environ ; de 18 à 34 jours, avec une moyenne de 23 jours à 20°-25°C pour Voïnovskaïa-Krieger (1927) ; environ 35 (28-42) jours à 18°-22°C selon Beling (1932). Daviault (1930) constate un développement plus long parce que à la température ordinaire du laboratoire (18° à 20°C) il obtint une nouvelle génération en 47 jours en moyenne avec un maximum de 63 jours, mais jamais moins de 40 jours ; à 28°C, la durée totale du développement de *N. canescens* serait de 27 à 30 jours selon ce dernier auteur.

Si le cycle évolutif de cet entomophage reste étroitement lié aux facteurs extrinsèques, notamment celui de la température comme nous l'avons indiqué ci-dessus, il est aussi dans certains cas soumis à des actions endogènes tels que le superparasitisme évoqué auparavant et celui du fonctionnement des glandes salivaires de la larve du parasite suivant certaines conditions spécifiques qui peuvent influencer le déroulement du processus de métamorphose (Kurstak, 1963).

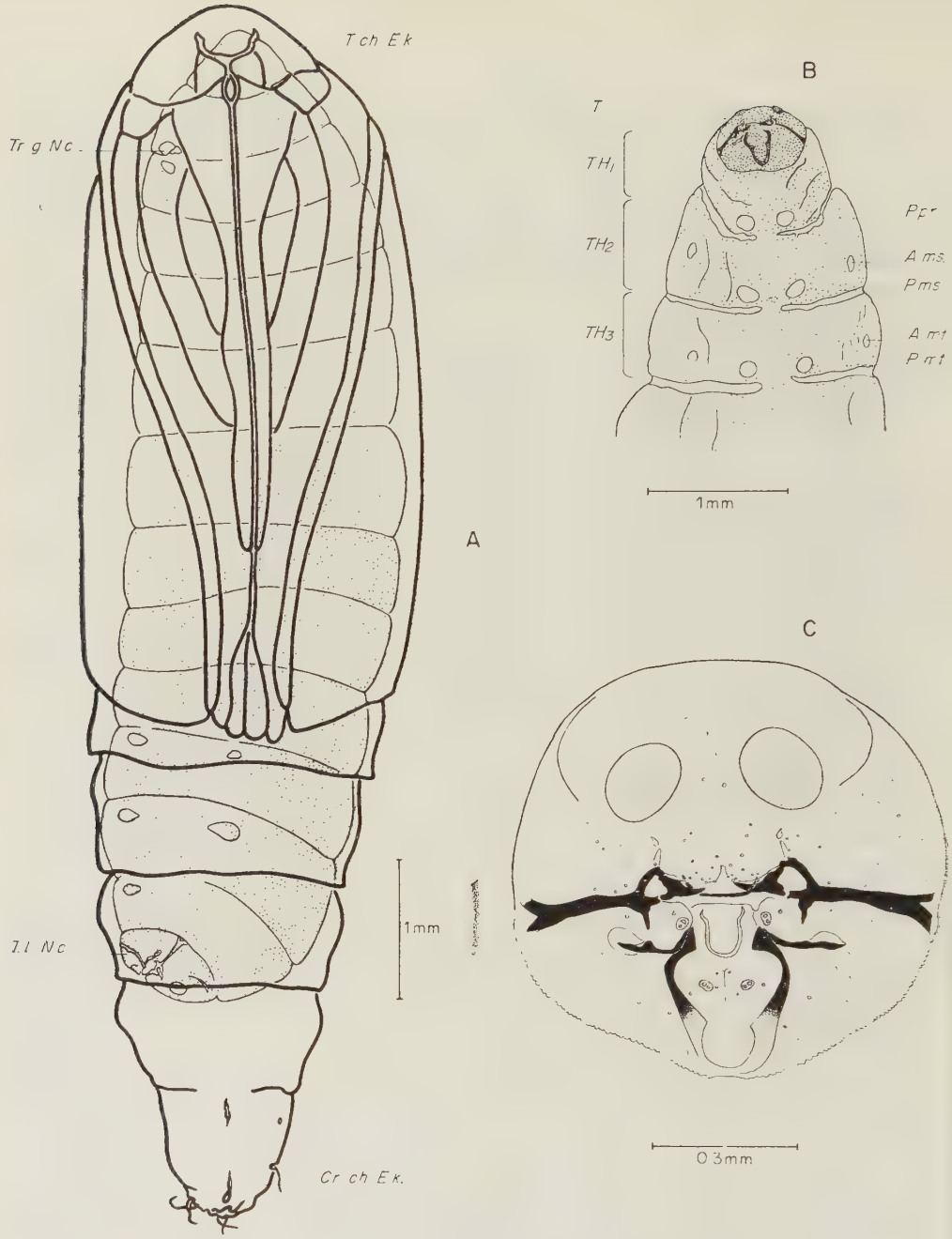


FIG. 8. — A) *Larve du dernier stade de* N. canescens *à l'intérieur d'une chrysalide d'*E. kühniella
B) *Détail de la partie antérieure de la larve de* N. canescens
C) *Détail de la tête de la larve du dernier stade de* N. canescens *vue de face ventrale*

Légende A

T. ch. *E. k*	Tête de la chrysalide d'*E. kühniella.*
Tr. g. *N. c.*.....	Trace des génitalia ♀ de *N. canescens.*
T. l. *N. c.*.....	Tête de la larve de *N. canescens.*
Cr. ch. *E.* k	Cremaster de la chrysalide d'*E. kuhniella.*

Légende B

T	Tête.
TH (1) (2) (3)	1er, 2e, 3e segments thoraciques.
P. pr.	Trace des ébauches pédieuses prothoraciques.
P. ms	Trace des ébauches pédieuses mésothoraciques.
P. mt	Trace des ébauches pédieuses métathoraciques.
A. ms	Traces ailaires mésothoraciques.
A. mt	Traces ailaires métathoraciques.

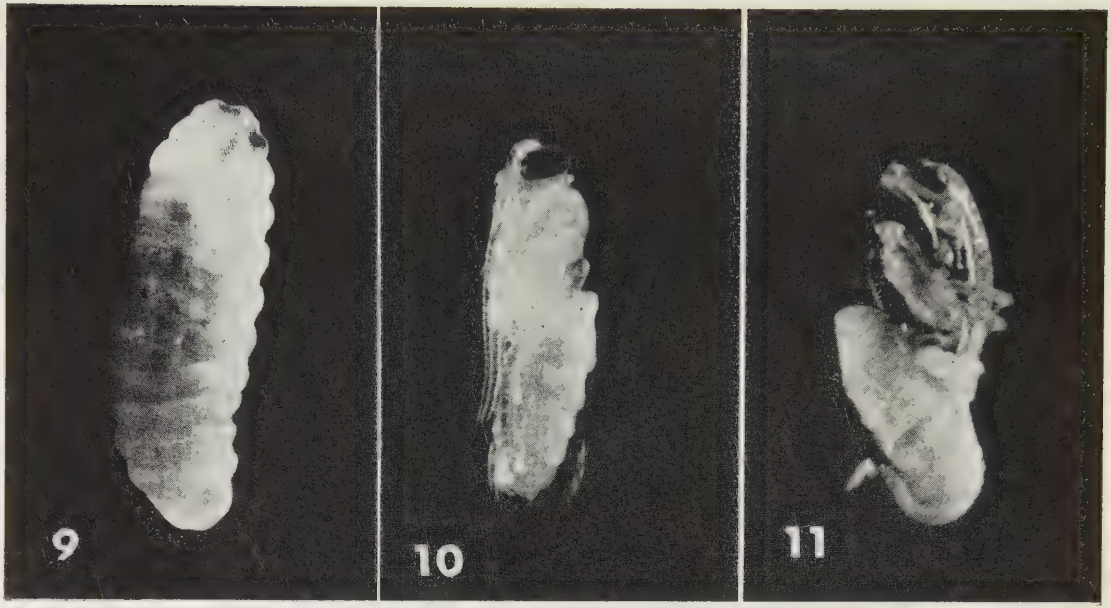


FIG. 9, 10 et 11. *Larve du dernier stade de* N. canescens (9) *et formation de l'imago* (10, 11)
(sujet extrait de la dépouille de leur hôte)

b) *Métamorphose — Relations avec la rétention de la soie*

A notre connaissance, la plupart des problèmes concernant le fonctionnement de glandes salivaires, de la soie en général, ainsi que de sa signification biologique, ont été étudiés seulement chez les Lépidoptères (Gilson, 1894 ; Umeya, 1926 ; Courtois 1928 ; Abderhalden et Zumstein, 1932 ; Couvreur et Clément, 1922 ; Grassé et Lesperon, 1935 ; Lesperon, 1937 ; Bouhniol, 1945 ; Demjanovski et Bourova, 1951 ; Allégret, 1954, 1956).

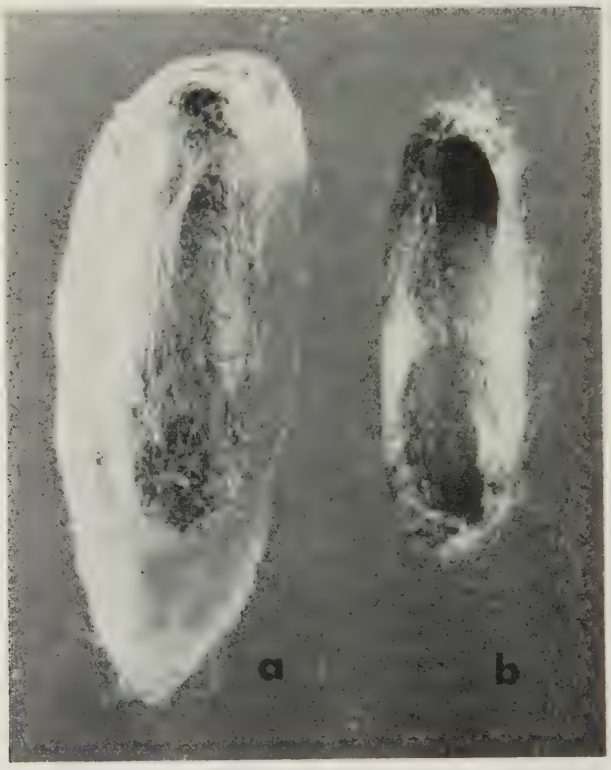


Fig. 12. — *Nymphose de* N. canescens *à l'intérieur du cocon soyeux de son hôte* E. kühniella (a) *et aspect du cocon du parasite extrait de celui de son hôte* (b)

Chez les Hyménoptères par contre, à l'exception d'une observation de Fabre, relative aux larves de *Scolies*, qui montre que, le rejet de la soie est indispensable à la métamorphose, aucun travail ne semble exister.

Par suite d'observations que nous relatons ci-dessous, la signification biologique de la production de la soie chez l'Hyménoptère *Nemeritis canescens* Grav. fut prise en considération.

Comme nous l'avons déjà mentionné, au terme de son évolution, la larve du parasite se nymphose pratiquement toujours à l'intérieur de la dépouille de son hôte, en tapissant celle-ci d'une couche de soie en forme de cocon, et il en est de même pour

les cas de nymphose à l'intérieur des cocons soyeux de l'hôte. Mais, il arrive parfois, que la larve en grossissant en fin de croissance, fasse éclater la dépouille de son hôte, surtout lorsque celui-ci a achevé sa chrysalidation (fig. 13) ; lorsqu'elle est ainsi en contact avec le milieu extérieur, constitué par la farine, elle ne tisse plus et n'achève plus son processus de métamorphose.

Nous nous sommes alors préoccupé de savoir s'il y avait une relation entre l'achèvement de la métamorphose et le fait de la rétention de la soie dans les glandes séricigènes chez des larves de *N. canescens* « éjectées » accidentellement dans la farine où elles ne peuvent trouver aucun support pour la fixation du fil de soie qui semble être la condition nécessaire pour le tissage.

Fig. 13. — *La larve de* N. canescens *quitte accidentellement la dépouille de son hôte-chrysalide d'*E. kühniella *après l'avoir fait éclater*

L'activité et la croissance de la larve « éjectée » de *N. canescens* diminuent progressivement ; la teinte de l'insecte devient plus sombre, rougeâtre, brunâtre (fig. 14 *b*), puis après 4-5 jours, sa coloration est complètement noire. A partir du moment où la larve devient brunâtre, elle ne donne plus aucun signe de vie.

Les larves ainsi mélanisées subissent une sorte de momification et se dessèchent sans être putréfiées (fig. 14 *c*). Sur 75 larves « sorties » occasionnellement de leur hôte et mises dans des petites boîtes plastiques de diamètre 4,5 cm, et dont le fond était couvert de farine, 69 (soit 92 p. 100) d'entre elles sont mortes de la façon qui vient d'être décrite.

Les larves « sorties » tardivement peu de temps avant le déclenchement de leur nymphose et ayant pu émettre une partie de leur soie avant la mise en place dans les récipients remplis de farine où elles ne trouvent pas de support pour la fixation du fil de soie, meurent également en présentant toutefois un début de nymphose.

Alors, nous avons cherché à connaître le comportement des larves de *N. canescens* « retirées » expérimentalement de leur hôte, c'est-à-dire de leur lieu habituel de nymphose et placées dans des conditions artificielles permettant le tissage de la soie.

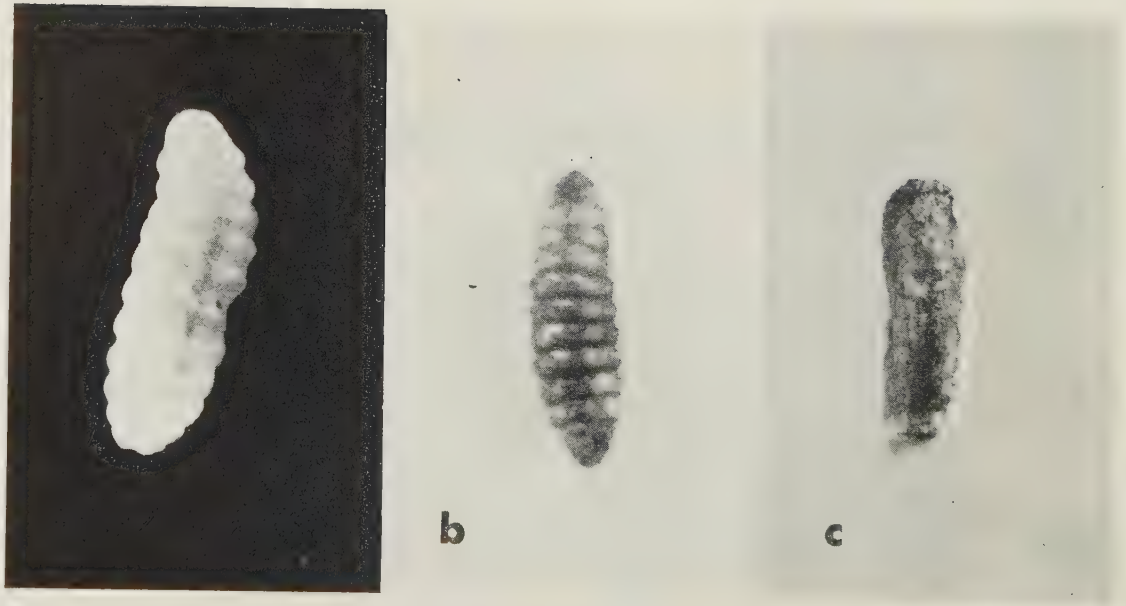


FIG. 14. *Différentes étapes de la maladie physiologique des larves de* N. canescens *ayant subi la rétention de leur soie*

a) Larve saine, début de la rétention de la soie ;
b) aspect de la larve au 5e jour de rétention de soie, mélanisation du corps et mort ;
c) momification et dessèchement de la larve sans putréfaction.

A cet effet, nous avons placé les larves entre des plis de papier-filtre, ou papier-carton ondulé, dans une petite boîte plastique, hermétiquement fermée et humidifiée, puis disposée dans une étuve obscure à 25°C. Les larves trouvant entre les plis du papier un point d'appui, de fixation du fil de soie, tissent une enveloppe avec des anomalies, mais se nymphosent (fig. 15 *a*, *b*), puis donnent des imagos après une prolongation du cycle évolutif habituel d'environ deux jours en moyenne.

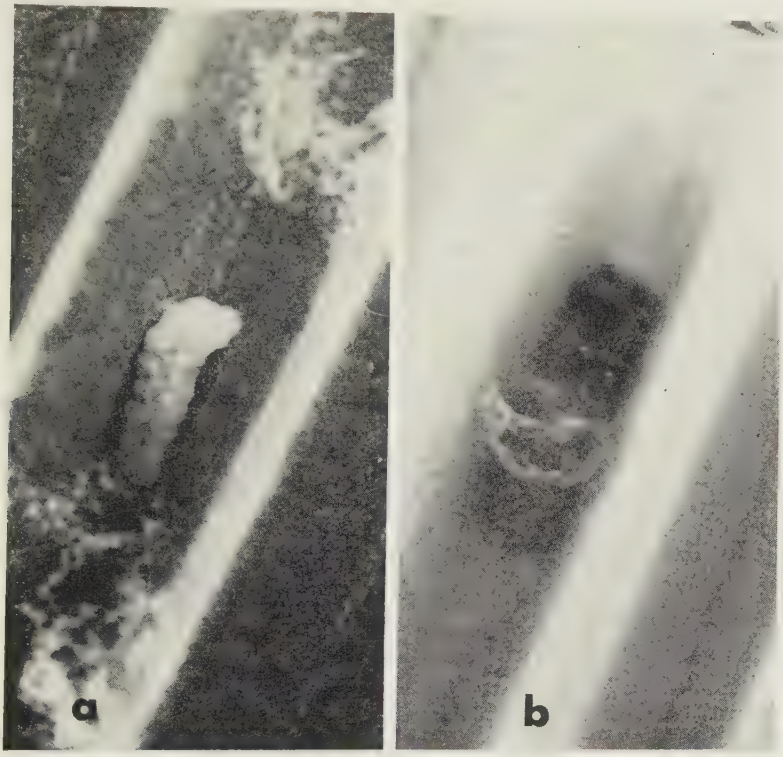


Fig. 15. — *Nymphose de la larve de* N. canescens *sortie accidentellement de la dépouille de son hôte après avoir été placée entre des plis de papier-carton ondulé*

Fixation du fil de soie et rejet libre de la soie (*a*)
et tissage d'une enveloppe de nymphose (*b*)

Sur 122 larves soumises à cette épreuve, 101 ont atteint l'état imaginal, soit près de 83 p. 100. Cette démonstration éthologique nous conduit à admettre chez cet Hyménoptère que, la rétention de la soie, dans les glandes salivaires, a un effet inhibiteur sur la nymphose, et si son rejet s'effectue avec anomalies alors, il y a prolongation de la durée du cycle évolutif habituel.

Les travaux concernant la signification biologique de la soie chez les larves de Lépidoptères, notamment ceux de Gilson (1890), Umeya (1926), Grassé et Lespéron (1934), et plus récemment d'Allégret (1956) donnent à peu près la même conclusion que l'élimination de la soie dans la période correspondant à la construction du cocon paraît indispensable à l'accomplissement de la métamorphose.

Lespéron (1937) parle même de toxicité de la soie retenue chez *Bombyx mori*

après que Grassé et Lespéron (1935) aient précisé le rôle excréteur des glandes séricigènes en apportant des preuves expérimentales du comportement de ces glandes à l'aide de colorants basiques.

Allégret (1956) dans ses conclusions relatives aux essais de rétention de soie, sur certaines espèces de Lépidoptères, souligne que la mue nymphale est retardée lorsque les glandes séricigènes ne remplissent pas intégralement leur rôle. La soie serait donc un produit d'excrétion qui résulterait du blocage sous forme de protéines complexes d'acides aminés nocifs par leur excès.

Il est très probable que, du fait de la rétention de la soie composée essentiellement d'acides aminés, tout au moins chez les larves de Lépidoptères, (Inouye, 1912, Abderhalden et Zumstein, 1932), les glandes séricigènes surchargées ne peuvent puiser dans l'hémolymphe les substances protéolytiques normalement éliminées vers l'extérieur sous forme de soie. Ainsi la présence de certaines substances chimiques dans le sang pourrait avoir un effet toxique et par conséquent inhibiteur au déclenchement de la nymphose, dont il semble bien que son accomplissement soit dû grâce à l'élimination de substances protidiques en excès par les tubes malpighiens et les glandes séricigènes.

D'après les travaux de différents auteurs cités auparavant, il semblerait que la rétention de la soie, dont la phénylalanine et surtout la tyrosine sont en quantité assez importante (Abderhalden et *al.*), provoque un métabolisme défectueux sous forme d'intoxication. Cependant l'organisme réagit probablement contre cette sorte d'intoxication, produite par la concentration trop élevée des acides aminés dans l'hémolymphe, qui se manifeste notamment par les changements de coloration et la mélanisation de l'insecte. Dans ce processus, les mélanines se constituent aux dépens de chromogènes phénoliques toxiques, dont la phénylalanine et la tyrosine forme l'essentiel (Allégret, 1956). Ce processus de mélanisation a été déjà constaté expérimentalement chez *Bombyx mori* par Couvreur et Clément (1919-1923) qui comparent l'aspect du Ver à soie n'ayant pu émettre sa soie aux larves qui ont subi une injection de tyrosine.

Il semblerait donc, d'une façon analogue, que la mue nymphale des larves de *N. canescens* ne puisse s'effectuer qu'après l'élimination des substances précurseurs et génératrices de soie. En tout état de cause, d'après les résultats de nos observations sur les larves de l'Hyménoptère *N. canescens*, il apparaît que l'impossibilité d'expulser le contenu des glandes séricigènes ait une conséquence néfaste vis-à-vis du développement normal du parasite et résulte de troubles du métabolisme comparables à ceux qui sont observés chez les Lépidoptères séricigènes.

c) *Vie imaginale du parasite. Effet de la température et de l'alimentation*

Puisque tous les imagos de *N. canescens* sont de sexe femelle, l'activité imaginale ne comporte pas de séquences d'accouplement et est essentiellement consacrée à la ponte.

Voïnovskaïa-Krieger (1927), Candura (1928), Daviault (1930), Beling (1932), Ahmad (1936) ont étudié l'influence sur la durée de la vie imaginale du parasite des facteurs extrinsèques, tels que la température, la nourriture, ainsi que le nombre

d'hôtes en contact. Nous avons réuni quelques données expérimentales complémentaires sur ce sujet.

Pour AHMAD, il y a une dépendance très étroite entre la durée de vie des imagos de *N. canescens* et les facteurs extrinsèques : ainsi la longévité moyenne des imagos normalement alimentés est de 53 jours à + 15°C, de 47 jours à + 18°C, de 40 jours à + 23°C, de 31, 7 jours à + 27°C, et de 19 jours à + 33°C. En dessous de 15°C, il n'y a plus d'augmentation de la durée de vie du parasite, celle-ci étant de 49 jours à + 12°C. Le maximum de longévité imaginale pour un seul imago seulement de l'ordre de 80 jours fut constaté par AHMAD à + 18°C.

TABLEAU 2

Durée de vie imaginale de N. canescens *sans contact avec son hôte* E. kühniella *et sans nourriture*

Nombre d'imagos en essai	Longévité en jours à :					
	+ 15°C		+ 20°C		+ 25°C	
	écarts (1)	moyenne	écarts	moyenne	écarts	moyenne
50 séparément	14,81-18,78	16,80	5,56-10,44	8,00	3,81-4,23	4,02
50 en lot de 10	15,86-18,17	17,02	6,46- 9,66	8,06	3,88-4,32	4,01

(1) Intervalle de confiance de la moyenne au seuil de 5 p. 100.

TABLEAU 3

Durée de la vie imaginale de N. canescens sans contact *avec son hôte* E. kühniella *mais en présence d'eau sucrée à 10 p. 100*

Nombre d'imagos en essai	Longévité en jours à :					
	+ 15°C		+ 20°C		+ 25°C	
	écarts (1)	moyenne	écarts	moyenne	écarts	moyenne
50 séparément	40,53-42,83	41,68	20,47-23,33	21,90	13,82-16,26	15,04
50 en lot de 10	42,11-43,92	43,02	21,41-23,99	22,70	14,16-16,00	15,06

(1) Intervalle de confiance de la moyenne au seuil 5 p. 100.

CANDURA (1928) observe que le parasite pondant nourri de liquide sucré peut vivre de 2 à 3 semaines et plus en hiver.

D'autres auteurs évoquent également une prolongation considérable de la durée de vie des imagos de *N. canescens* par l'alimentation.

D'après Ahmad qui confirme les observations antérieures de Beling, le parasite nourri avec du miel et sans contact avec l'hôte à une température de + 23°C vit en moyenne 40 jours, tandis que sa survie ne dépasse pas 4 jours en absence de nourriture.

Candura (1928) et Daviault (1930) avaient fait des constations comparables mais moins précieuses.

Nous avons obtenu les résultats figurant dans les tableaux ci-avant en plaçant des imagos prélevés immédiatement après leur émergence tantôt isolément, tantôt par groupes de dix individus par boîte en matière plastique à différentes températures (+ 15°C, + 20°C, + 25°C) avec et sans alimentation, et sans contact avec l'hôte. L'aliment consistait en solution d'eau sucrée à 10 p. 100 imbibant un coton.

Ainsi, en moyenne pour 100 individus, la longévité de *N. canescens* sans contact avec l'hôte diminue proportionnellement avec l'augmentation de la température et croît considérablement en présence de nourriture :

	Sans nourriture	Avec solution 10 p. 100 d'eau sucrée
à + 15°C	17 jours	43 jours (69 jours maximum p/1 individu.)
à + 20°C	8 jours	22 jours
à + 25°C	4 jours	15 jours

d) *Effet du nombre d'hôtes sur la durée de vie imaginale du parasite*

Des données concernant la durée de vie des imagos de *N. canescens* en contact avec l'hôte sont évoquées surtout par Ahmad et partiellement par Beling. D'après ces auteurs, la longévité des imagos du parasite diminue, s'il est en contact avec l'animal hôte. Cette réduction de vie est attribuée à la fatigue du parasite résultant de la ponte.

Voici quelques données apportées par Ahmad et Beling concernant la durée moyenne de vie des imagos *N. canescens* par rapport au contact avec l'hôte : nourris avec du miel.

	Sans contact avec l'hôte	En contact avec l'hôte	
à + 18°C	47 jours	31,6 jours	Ahmad
à + 23°C	40 jours	20 jours	Ahmad
de + 18 à 22°C	55,7 jours	4,6 jours	Beling

Nous résumons dans le tableau ci-après et dans la figure 16 nos propres résultats obtenus au cours d'essais maintenus en conditions constantes (+ 15°C, + 20°C, + 25°C) et 60-80 p. 100 H. R., où une seule femelle du parasite était placée en contact avec des quantités déterminées (25, 50, 100, 150, 200 et 300) d'hôtes, comprenant 10 répétitions à chacune des températures. En outre les imagos étaient alimentés avec une solution de 10 p. 100 d'eau sucrée.

Ces résultats mettent en évidence que la présence et l'augmentation progressive du nombre d'hôtes en contact avec le parasite provoque une diminution de la durée de sa vie à + 20°C et + 25°C (voir également fig. 16).

A la température de + 20°C par exemple, elle est de 18,5 jours pour 50 hôtes et de 14,1 jours pour 200 hôtes en contact, tandis que sans contact la longévité est

TABLEAU 4

Durée de vie imaginale de N. canescens *mis en contact avec un nombre variable d'hôtes* E. kühniella *et en présence d'une solution d'eau sucrée à 10 p. 100*

Nombre d'hôtes en contact avec une femelle parasite	Longévité en jours à :					
	+ 15°C		+ 20°C		+ 25°C	
	min.-max.	moyen.	min.-max.	moyen.	min.-max.	moyen.
25	16-58	41,9	10-30	20,3	8-18	13,2
50	19-54	42,6	11-24	18,5	7-17	12,2
100	22-53	39,9	8-23	15,9	4-14	10
150	18-52	40,	7-22	16,7	6-13	10,6
200	14-55	40,8	7-21	14,1	3-16	9,2
300	11-53	39,8	8-22	14,9	6-14	9,4

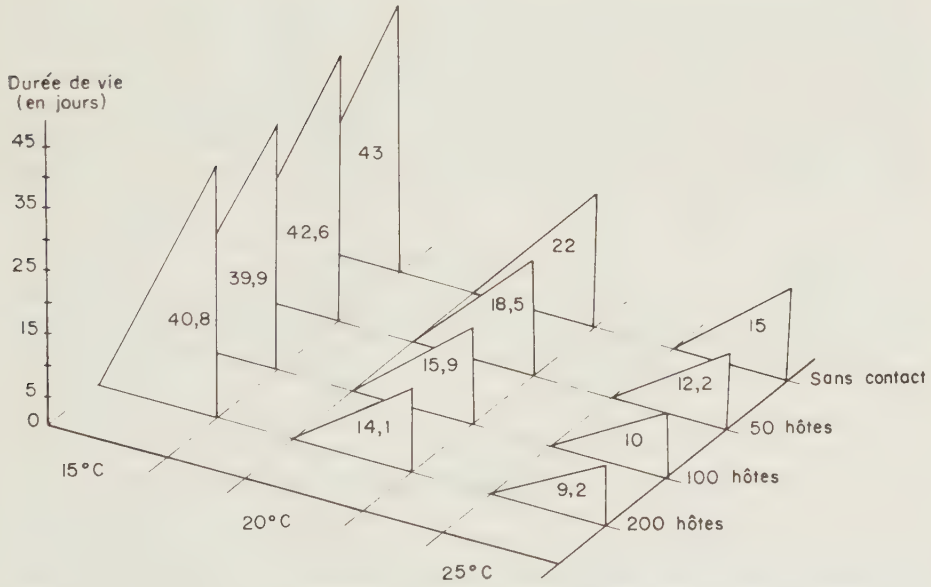


FIG. 16. — *Durée de vie imaginale de* N. canescens *en contact avec un nombre variable d'hôtes et en présence de nourriture (solution d'eau sucrée à 10 p. 100) à différentes températures*

en moyenne de 22 jours. Par contre à + 15°C, l'augmentation du nombre d'hôtes en contact avec *N. canescens* n'influence pratiquement pas la durée de vie du parasite ; celui-ci est à cette température très peu vigoureux pendant sa longue survie, les

actes de ponte ne se produisent qu'entre de rares intervalles, contrairement à ce qui se produit durant l'activité trépidante et la ponte fréquente à + 20°C et surtout à + 25°C.

5. Activité ovogénétique et reproductrice

Différents aspects de ces problèmes furent abordés indirectement dans certains paragraphes précédents et actuellement, nous nous proposons d'étudier les caractéristiques de l'activité ovarienne de *N. canescens* liée d'une part, à son mode de reproduction, et d'autre part au fonctionnement de l'appareil génital.

a) *Parthénogenèse thélytoque*

Je n'ai jamais récolté de mâle dans le milieu naturel précédemment mentionné ni pendant l'élevage au laboratoire où pendant trois années et au cours de nombreuses générations, les quelques dix mille individus manipulés à l'état d'imago étaient toujours du sexe femelle.

Ainsi, l'espèce *Nemeritis canescens* GRAV. présente un cas de parthénogenèse thélytoque constante, qui n'est pas fréquente chez les Ichneumonidae, alors qu'elle est souvent de règle chez certains Cynipidae et Chalcidiens.

Les facteurs intrinsèques et extrinsèques qui interviennent, tels que la température, la nourriture, l'état physiologique de l'hôte, les facteurs génétiques et d'autres, durant la vie des insectes, dans certains cas peuvent modifier le mode de reproduction et rendent très complexe le déterminisme de la parthénogenèse. Par exemple, FLANDERS (1944) indique que *Prospaltella perniciosi* change de mode de reproduction suivant la nourriture, en étant amphitoque sur pêcher et thélytoque sur citrouille, ce qui n'est pas confirmé par les travaux de BÉNASSY (1961). Toujours d'après FLANDERS (1945), les femelles d'*Habrolepis rouxi* élevées à 80°F sur *Aonidiella aurantii* sont thélytoques, et à 90°F amphitoques ou arrhénotoques.

Nos observations sur le mode de reproduction de *N. canescens*, à différentes températures, 15°, 20° et 25°C, avec ou sans nourriture (solution de 10 p. 100 d'eau sucrée) ont toujours mis en évidence l'absence totale de mâles et le maintien de la thélytoquie.

L'absence de mâles chez l'espèce *N. canescens* est notamment mentionnée par DIEUZEIDE (1926), VOÏNOVSKAÏA-KRIEGER (1927), CANDURA (1928), WHITING (1928), DAVIAULT (1930), NARAYANAN (1930), RIETRA (1932), AHMAD (1936), SIMMONDS (1943) ; tous ces auteurs soutiennent la thèse de la reproduction parthénogénétique de l'espèce, tandis que DAUTERT-WILLIMZIK (1931), BELING (1932), HASE (1937) et récemment AUBERT (1959) signalent l'apparition de mâles de *N. canescens* ; parmi ces derniers auteurs alors que HASE mentionne des accouplements, DAUTERT-WILLIMZIK n'en observe pas et signale que les mâles ne prêtent aucune attention aux femelles se tenant à leurs côtés sans montrer la moindre excitation.

Ces contradictions sont interprétées par THORPE (1939) et SIMMONDS (1943) comme le résultat d'une thélytoquie normale, les mâles étant extrêmement rares et apparemment sans fonction reproductrice.

b) *Appareil reproducteur de la femelle*

De nombreux travaux donnent des informations précises sur l'anatomie de l'appareil reproducteur des Hyménoptères, notamment ceux de Dufour (1841), Bordas (1894), Pawlowsky (1914), Mayer (1934), Kuttamathiathu (1956), Aubert (1959). Aussi, en ce qui concerne *N. canescens*, nous nous sommes proposé d'effectuer seulement un examen morphologique et topographique des principaux organes reproducteurs de la femelle.

Après dissection en liquide physiologique de Ringer, ces organes sont transportés sur lame où ils sont fixés puis colorés au carmin acétique de Sémichon et montés dans le Baume du Canada (Langeron, 1949).

Les ovaires du type méroïstique polytrophique comptent jusqu'à 16 gaines ovariques et débouchent chacun dans un oviducte assez long, susceptible d'emmagasiner un grand nombre d'œufs retenus ; les deux oviductes débouchent à leur tour dans l'utérus (*oviductus communis*) où l'on distingue dans la partie supérieure la spermathèque assez réduite chez cette espèce thélytoque.

Les glandes annexes, alcaline et acide, trouvent leur achèvement dans la partie basse de l'*oviductus communis* à proximité de l'ovipositeur constitué de même structure que chez les autres Hyménoptères (Dufour (1841), Lacaze-Duthiers (1849), Brocher (1926), Snodgrass (1935)).

L'observation de la tarière révèle l'existence de plusieurs petites ouvertures qui pourraient être des chimiorécepteurs analogues à ceux décrits notamment par Dethier (1947), Kuttamathiathu (1956), Aubert (1959). D'après Kuttamathiathu, les stylets seuls présentent des sensilla « chimiorécepteurs » chez *Philotrypesis caricae* L. Des ouvertures non caractérisées, mais assimilées à des chimiorécepteurs par Aubert ont été observées par cet auteur chez *Pimpla instigator* F., et *Apechthis compunctor* L. Dethier, en coupant l'abdomen de *N. canescens*, a caractérisé une réaction chimiotactique de la tarière, après l'opération, par contact avec certaines substances chimiques.

Ainsi, par cette fonction chimioréceptrice de la tarière, nous pouvons interpréter le phénomène de chimiotropisme de la soie dans le comportement de ponte de *N. canescens* décrit auparavant. D'autre part, Salt (1937), observe que les femelles de *Trichogramma evanescens* peuvent reconnaître les hôtes déjà parasités, et il pense que la tarière joue sans doute un rôle dans cette détection.

c) *Maturation, émission et rétention des ovocytes*

Avant d'aborder le problème de la fécondité de *N. canescens*, il nous a paru bon de relever les caractéristiques de son activité ovarienne (fig. 17, 18, 19, 20, 21, 22 et 23).

Les voies génitales ne sont pas modifiées en organes stockeurs dès l'émergence, cependant elles possèdent une grande capacité de distention sous l'effet de la pression ovarienne qui fait suite à l'ovogenèse.

De nombreuses dissections d'organes génitaux ont montré que, dans les ovaires du parasite ayant effectué son cycle évolutif à + 25°C, de nombreux ovocytes sont mûrs et près de la moitié est descendue dans les oviductes. Sur 100 individus disséqués

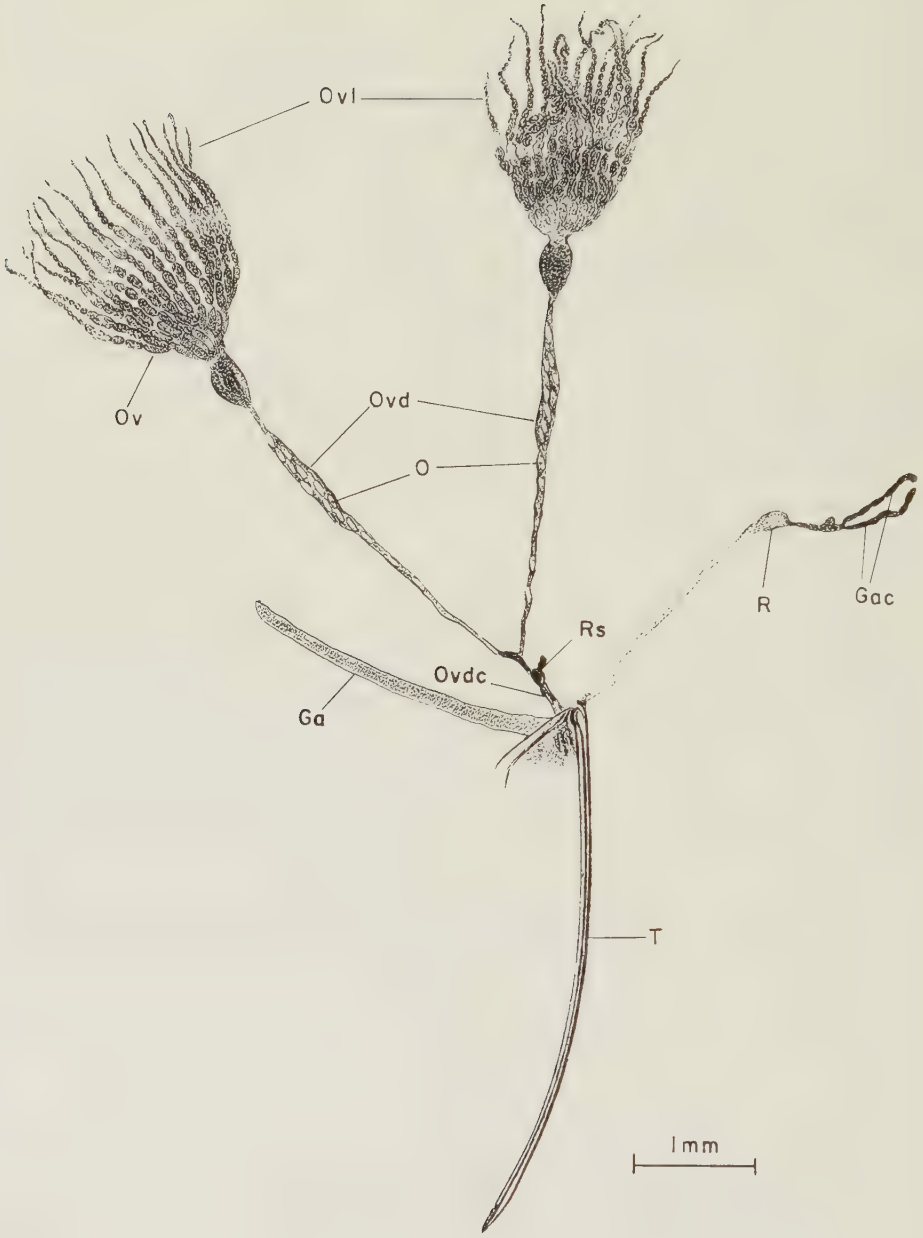


Fig. 17. — *Appareil génital femelle de* N. canescens *à la sortie de l'imago à 25°C. Présence d'œufs mûrs descendus dans les oviductes*

O : œufs, Ov : ovocyte, Ovl : ovarioles, Ovd : oviductes, Ovdc : *oviductus communis*, R : réservoir, Rs : réceptacle séminal, Ga : glande alcaline, Gac : glande acide, T : tarière.

dès l'émergence, nous avons dénombré en moyenne de 40 à 60 ovocytes mûrs dans les organes génitaux de chacun, dont une vingtaine stockés dans les oviductes, et en général 6 à 8 ovocytes au cours de l'évolution. Au total cela peut représenter de 242 à 316 œufs pour une seule femelle.

D'après CANDURA (1928), on trouve de 280 à 366 œufs dans les ovaires de *N. canescens* et de 280 à 300 œufs d'après VOÏNOVSKAÏA-KRIEGER (1927).

FIG. 18. — *Mise en réserve des œufs dans les ovictudes de* N. canescens *de 48 heures sans contact avec l'hôte à 25°C*

La température exerce une influence sur la vitesse de croissance des ovocytes : à + 25°C, pour une vie imaginale trois fois plus courte, les femelles de *N. canescens* privées d'hôtes, produisent à peu près le même nombre d'ovocytes mûrs qu'à + 15°C (voir tableau ci-après).

TABLEAU 5

Nombre d'ovocytes mûrs dans les organes génitaux de N. canescens *sans contact avec son hôte à différentes températures*

Températures	Nombre d'ovocytes mûrs			Nombre d'individus examinés
	Minimum	Maximum	Moyenne	
à + 25°C				
dès l'émergence	38	63	46,7	100
après 10 jours	123	184	149,5	50
à + 15°C				
après 10 jours	78	109	97,7	50
— 30 jours	117	193	156,6	50
— 40 jours	134	213	167,8	26
— 50 jours	116	148	132,3	17

FIG. 19. — *Augmentation du nombre d'œufs dans les oviductes après dix jours sans contact avec l'hôte à 25°C*

D'après ces résultats, il apparaît que, après 10 jours de vie imaginale à + 15°C, la femelle ne possède environ que 100 œufs (97,7) prêts à être déposés, tandis qu'on en dénombre environ 150 (149,5) à + 25°C, et que cette quantité est également atteinte (156,6) au 30e jour seulement à + 15°C.

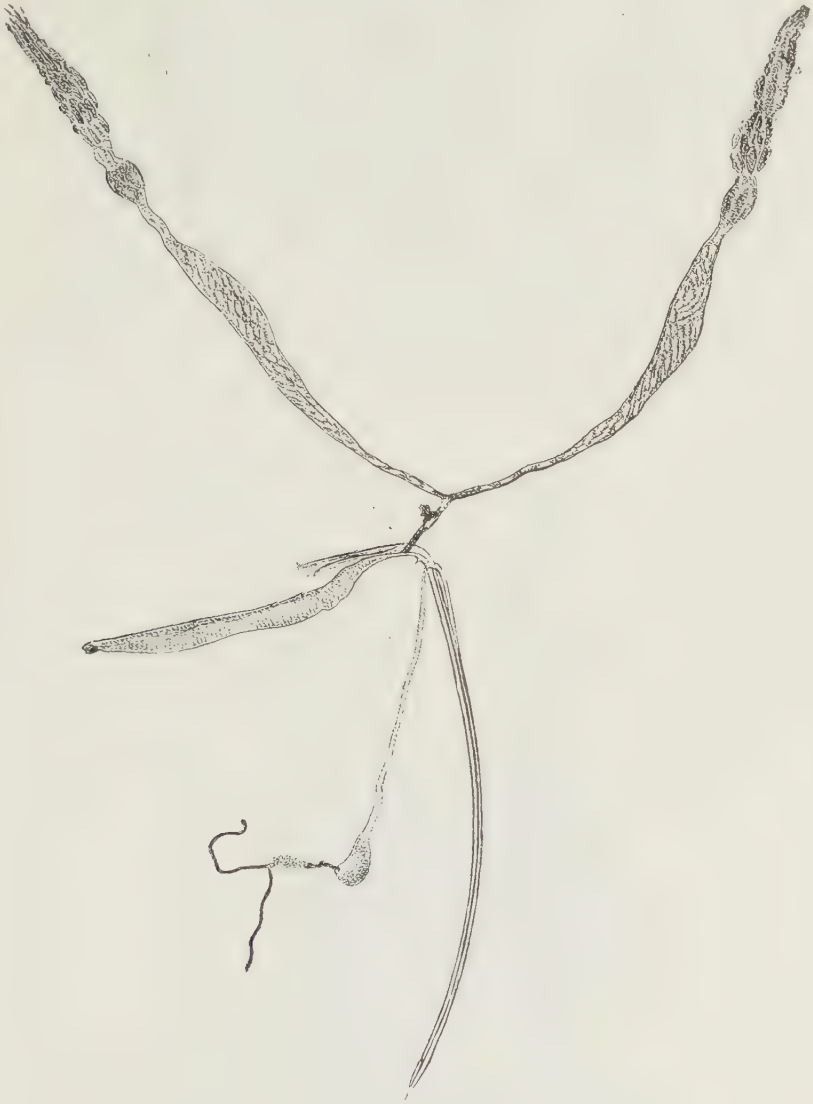


FIG. 20. — *Appareil génital femelle de* N. canescens
conservé 40 jours à 15°C sans contact avec l'hôte, après élevage des larves à 25°C

D'autre part, à + 15°C d'après les résultats du tableau ci-avant, il semble qu'en absence d'hôtes, il y a chez *N. canescens* un accroissement progressif d'ovocytes mûrs stockés dans les oviductes, quoiqu'on observe un certain nombre d'ovocytes en voie de résorption. Néanmoins, cet accroissement se poursuit jusqu'au 40e jour

(167,8 œufs) mais au-delà de ce délai on note une régression du nombre d'œufs (132,3 œufs au 50e jour). Cet état est dû à la résorption accentuée d'ovocytes mûrs conservés longtemps dans les oviductes.

FIG. 21. — *Appareil génital femelle de* N. canescens *après dix jours de contact avec l'hôte à 25°C*

Des conditions imposées par l'expérience (absence d'hôtes) nous relevons que chez *N. canescens*, la production d'œufs est continue et que la stimulation de l'hôte

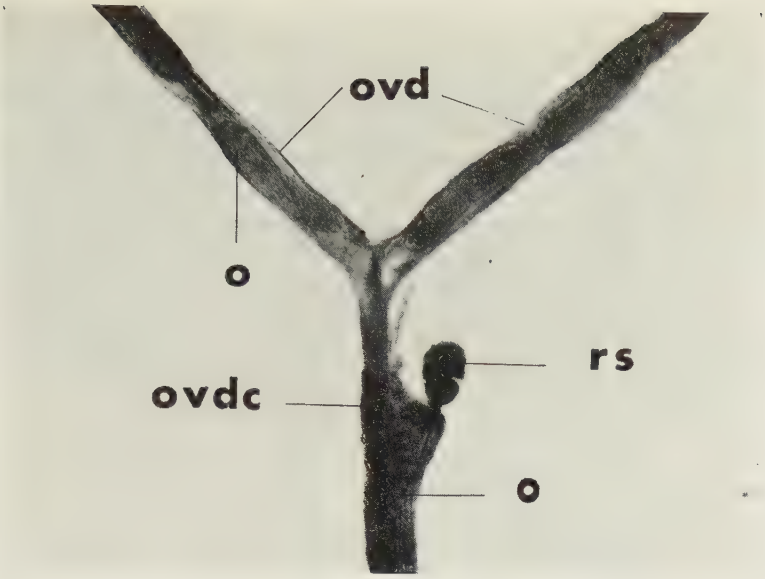


FIG. 22. — *Présence d'œufs mûrs descendus dans les oviductes et dans l'utérus à la sortie de l'imago* N. canescens *à 25°C*
o : œuf, ovd : oviductes, ovdc : *oviductus communis*, rs : réceptacle séminal.

FIG. 23. — *Mise en réserve des œufs dans les oviductes de l'appareil génital femelle de* N. canescens *de 40 jours à 15°C sans contact avec l'hôte*

ne serait pas aussi déterminante sur l'activité ovarienne des parasites que les travaux de plusieurs auteurs déjà cités le laissaient envisager.

Labeyrie (1960) souligne que chez *Diadromus* sp., « l'activité ovarienne en absence d'hôtes entraîne la formation de 15 à 20 œufs au cours de la vie de la femelle. Il y a donc une production de base en absence de toute stimulation extérieure ».

Chez *N. canescens*, sans contact avec l'hôte, l'ovogenèse paraît se poursuivre normalement, et par suite de l'impossibilité de pondre, les ovocytes mûrs stockés dans les oviductes distendus sont émis par la femelle dès que des conditions propices se présentent.

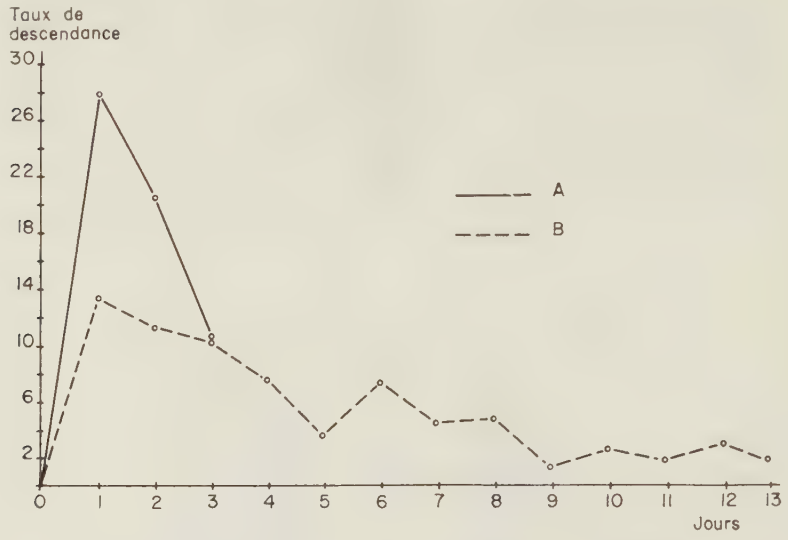


Fig. 24. — *Résultats numériques portant sur la capacité de fécondité moyenne de* N. canescens *mis successivement toutes les 24 heures sur un nouveau lot de 100 hôtes à 25°C*

A. Taux de descendance imaginale du parasite suivant les jours de vie de *N. canescens* en contact avec son hôte, seulement après 40 jours de privation d'*E. kühniella*

B. Taux de descendance imaginale du parasite suivant les jours de vie de *N. canescens* en contact avec l'hôte dès l'émergence.

La longue rétention ne semble pas avoir d'influence néfaste sur la viabilité de ces œufs. Dans nos essais, il importait de voir l'importance de viabilité d'œufs retenus longtemps chez *N. canescens* et parallèlement dans quelle mesure la « pression ovarienne » avait une influence sur le parasitisme de cet Hyménoptère.

Comme valeur numérique de la capacité de fécondité moyenne de l'entomophage, nous avons pris le taux de descendance imaginale du parasite. Fisher (1959) indique notamment que le nombre réel de la descendance à une température donnée est la seule indication valable du potentiel reproductif (ponte effective) d'un parasite.

Ainsi, d'une part, 5 femelles de *N. canescens* ayant séjourné auparavant à + 15°C, en absence d'hôtes pendant 40 jours et d'autre part, le même nombre de femelles de parasite prises dès l'émergence, ont été placées à + 25°C successivement sur des lots de 100 chenilles d'hôtes *E. kühniella* renouvelées toutes les 24 heures.

Les résultats numériques de cette expérience présentés par la figure 24 démontrent que, pour les 3 premiers jours de ponte, le taux de descendance imaginale de *N. canescens* est nettement plus élevé dans le cas où les femelles furent obligées de

retenir leurs œufs pendant longtemps (A) ; en outre, leur vie parasitaire est de plus courte durée que celle se rapportant à l'entomophage parasitant l'hôte dès le début de sa vie imaginale (B). Dans ce dernier cas, le parasite ne stocke pas un grand nombre d'œufs mûrs dans les oviductes.

Les dissections d'organes génitaux de femelles provenant de mêmes conditions que celles évoquées plus haut, avant et après la mise en dispositif expérimental, révèlent un stockage important d'œufs dans les oviductes de femelles sans contact avec l'hôte, et leur expulsion dès que la possibilité de ponte est offerte.

Ce stockage important d'œufs (voir fig. 18,19, 20 et 23) pouvant créer la « pression ovarienne » il est très probable que chez *N. canescens* elle joue un certain rôle

TABLEAU 6

Nombre d'imagos de N. canescens *obtenu lorsque le géniteur avait été mis en contact avec l'hôte après 40 jours de séparation*

Femelle	Au 1er (41e) jour	Au 2e (42e) jour	Au 3e (43e) jour	Total
N° 1	34	19	0	53
N° 2	26	38	22	86
N° 3	41	4	7	52
N° 4	16	28	10	54
N° 5	23	14	3	40
Moyenne	28	20,6	10,5	57

dans le comportement de ponte duquel on ne peut pas dissocier le superparasitisme.

La viabilité des œufs mûrs déposés après avoir été retenus dans les organes génitaux de *N. canescens* pendant 40 jours à + 15°C semble être satisfaisante (fig. 24 A).

Nous en avons apporté la preuve expérimentale exprimée par le potentiel effectif de reproduction (1) de 5 femelles du parasite. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessus.

Le nombre d'imagos descendants obtenus à + 25°C à partir de *N. canescens* ayant séjourné à — 15°C pendant 40 jours en absence d'hôtes atteint donc en moyenne 57 individus par femelle ; il est de 67 imagos dans une seconde expérience où 5 autres femelles avaient la possibilité de pondre à + 25°C dès l'émergence. Les taux de descendance imaginale des femelles sont présentés par la figure 25.

8. Descendance effective et correspondance chronologique des cycles évolutifs du parasite et de son hôte à différentes températures.

C'est en tenant compte de la présence du superparasitisme chez *N. canescens*, et d'autres facteurs intervenant durant son développement, c'est-à-dire depuis le moment de dépôt de l'œuf à l'émergence d'un imago, que nous avons envisagé d'appré-

(1) Le potentiel effectif de reproduction compris dans notre étude correspond aux taux de descendance d'imagos vivants et féconds d'une femelle de *N. canescens* au contact de son hôte. Il varie suivant les facteurs évoqués au cours de ce travail.

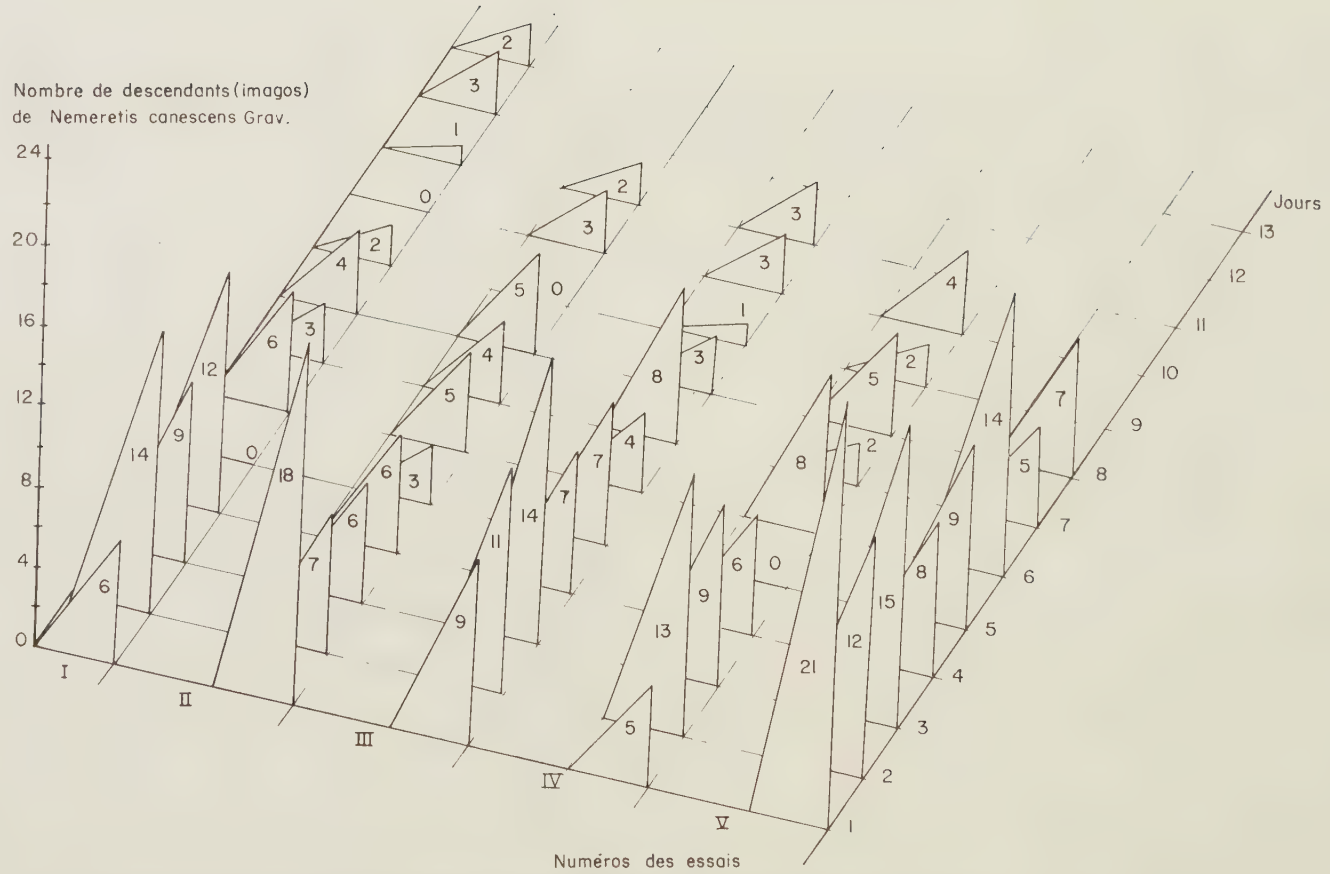


FIG. 25. *Rythme de ponte effective de* N. canescens *en contact avec son hôte* E. kühniella *à 25°C dès l'émergence, mesuré par le taux de descendance imaginale du parasite. La femelle de* N. canescens *(une par essai) est mise toutes les 24 heures sur un nouveau lot de* 100 *hôtes.*

cier la valeur de la capacité de fécondité du parasite par le « potentiel effectif de reproduction » mesuré uniquement par le nombre de descendants imagos obtenus.

Il nous semble, en effet, que le nombre de descendants viables est un excellent indice du « potentiel biotique » de *N. canescens* comportant l'intégration des facteurs limitants extrinsèques et intrinsèques parmi lesquels la température et la quantité d'hôtes offerts au parasite jouent un rôle essentiel (Ahmad, 1936).

Nous avons effectué des essais systématiques dont les résultats numériques sont résumés dans le tableau 7 ci-dessous ; ils indiquent les moyennes du potentiel de reproduction des femelles du parasite, mises en contact dès l'émergence avec des quantités différentes d'hôtes aux températures de + 15°C, + 20°C, + 25°C ; ainsi, les progénitures moyennes suivantes sont obtenues pour 10 répétitions dans chacune desquelles se trouvait une femelle du parasite :

TABLEAU 7

Pour	A + 15°C	A + 20°C	A + 25°C
25 hôtes offerts	0,2 imago	8,1 imagos	16,4 imagos
50 — —	0,5 —	17,4 —	22,9 —
100 — —	1,2 —	29,3 —	44 —
150 — —	1,7 —	42,3 —	51,4 —
200 — —	2,3 —	55,3 —	71,6 —
300 — —	2,7 —	54,7 —	63,7 —

Le maximum de descendants d'une femelle de *N. canescens* a été obtenu pour un contact avec 200 hôtes où il est apparu 114 imagos du parasite. Il semble donc que le potentiel effectif de reproduction du parasite croît progressivement avec la quantité d'hôtes offerts et avec l'augmentation de la température au moins dans les limites auxquelles nos essais ont été effectués.

Au-delà de 200 hôtes par parasite, il y aurait un seuil au-dessus duquel le potentiel n'augmente plus car le superparasitisme est trop réduit pour exercer un rôle limitant.

Comme nous le constatons à + 15°C, le potentiel effectif de reproduction du parasite est très faible pour n'importe quel nombre d'hôtes en contact.

Les travaux de Ahmad (1936) également démontrent que le nombre de descendants d'une femelle de *N. canescens* augmente progressivement avec le nombre d'hôtes en contact, et varie suivant les températures. Il situe le seuil au-dessus duquel le potentiel n'augmente plus à 100-200 hôtes par parasite, bien que le potentiel effectif de reproduction à + 18°C et + 23°C soit supérieur à celui obtenu à + 27°C et + 30°C. Ces observations sont analogues aux nôtres et à + 15°C Ahmad observe aussi un potentiel très faible. Le maximum fréquent obtenu par cet auteur est de 60 descendants pour une femelle parasite avec un maximum exceptionnel de 75 individus à + 23°C pour 300 hôtes en contact, confirmant ainsi les données de Voïnovskaïa-Krieger (1927), cependant que Beling (1932) indique un maximum de 36 imagos pour un seul parasite.

Nos propres chiffres maxima sont de 71,6 descendants pour une femelle à + 25°C et en présence de 200 hôtes ; de 55,3 à + 20°C et de 2,3 à + 15°C.

Ainsi le développement du parasite *N. canescens* et celui de son hôte *E. kühniella* sont étroitement liés aux conditions thermiques du milieu, ce que met en évidence le graphique ci-joint (fig. 26) pour les températures de + 15°C, + 20°C et + 25°C, où figurent la durée du développement larvaire (II L) et de la chrysalidation (II C) de l'hôte comparativement au développement complet de *N. canescens* (III), ainsi que les durées moyennes de la vie imaginale du parasite (I).

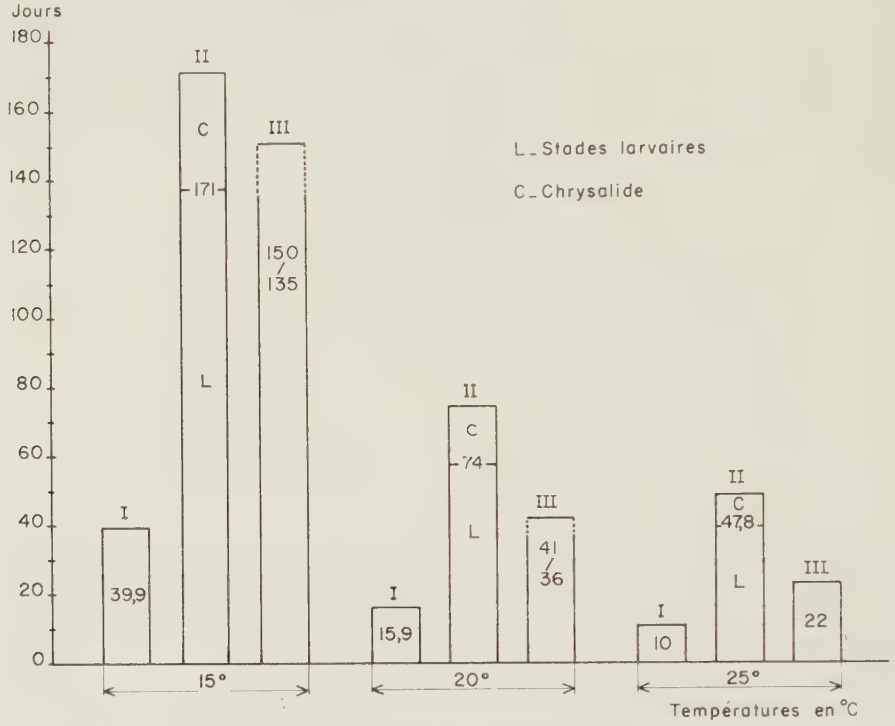


FIG. 26. — *Correspondance chronologique des cycles évolutifs du parasite* N canescens *et de son hôte* E. kühniella *à différentes températures*

I. Durée de la vie imaginale du parasite.
II. Durée du développement de l'hôte.
III. Durée du développement du parasite.
L. Stades larvaires.
C. Chrysalidation.

A + 25°C le parasite *N. canescens* trouve probablement les conditions optimales pour un meilleur rendement parasitaire. En effet, tandis qu'*E. kühniella* a une durée de développement de 48 jours environ l'entomophage évolue en 22 jours seulement, ce qui lui permet d'accomplir deux cycles évolutifs complets (deux générations) pendant une seule génération de son hôte. D'autre part à + 25°C, l'action parasitaire de *N. canescens* est très efficace et provoque une réduction importante de la population d'*E. kühniella*. En plus, la durée de la vie imaginale de *N. canescens* qui est de 10 jours est supérieure à la durée de développement des stades larvaires réceptifs de l'hôte.

A + 20°C la durée du cycle évolutif du parasite présente une prolongation proportionnellement plus grande que celle de la durée de développement de l'hôte.

Au total à 20°C le parasite et l'hôte exigent respectivement pour leur développement 41 et 74 jours environ.

Enfin, à + 15°C, les durées de développement de *N. canescens* et *d'E. kühniella* présentent beaucoup moins d'écart puisqu'elles sont respectivement de 150 jours pour le premier et de 171 jours environ pour le second, c'est-à-dire que les cycles évolutifs du parasite et de l'hôte sont presque synchronisés.

Aux températures basses, durant l'hiver, le ralentissement du développement est beaucoup plus accentué chez le parasite *N. canescens* que chez son hôte *E. kühniella*. Ces résultats ont été confirmés par les observations faites en moulin : en hiver des chenilles parasitées ont été amenées au laboratoire et placées à différentes températures où elles reprenaient leur évolution selon une vitesse dépendante de l'âge du parasite. Il en était de même pour celui-ci qui sortait à l'état d'imago plus rapidement à + 25°C qu'à + 20°C ou + 15°C en tenant compte naturellement du stade auquel leur développement avait été arrêté sous l'effet des basses températures.

Inversement pour juger de l'effet des basses températures nous avons placé à − 15°C des chenilles d'*E. kühniella* de stade avancé et réceptives au parasite prélevées dans un élevage accéléré à + 25°C. Le ralentissement du développement s'est traduit par une vie latente de deux à trois mois à + 15°C avant la chrysalidation.

Cette vie latente et le synchronisme de développement du parasite et de l'hôte dans les conditions des basses températures est favorable au maintien des populations de l'entomophage.

On note également qu'à 15°C, la durée de vie imaginale de *N. canescens* dépasse souvent un mois, mais dans ces conditions de température, le potentiel de fécondité du parasite est peu important par suite d'une mortalité élevée et d'une activité très réduite. Par contre, à + 20°C et surtout à + 25°C l'activité de l'entomophage est très grande et son potentiel effectif de reproduction incomparablement plus élevé. Dans ce cas les grandes discordances chronologiques entre les cycles évolutifs favorisent l'accroissement du potentiel parasitaire de l'entomophage.

II^e PARTIE

ÉTUDE DES RELATIONS ENTRE L'INFECTION A *BACILLUS THURINGIENSIS* BERLINER ET LE PARASITISME PAR *NEMERITIS CANESCENS* GRAVENHORST (ICHNEUMONIDAE) CHEZ *EPHESTIA KÜHNIELLA* ZELLER (PYRALIDAE)

CHAPITRE III

ÉTUDE DE L'INFLUENCE RÉCIPROQUE DU PARASITE ENTOMOPHAGE *NEMERITIS CANESCENS* GRAVENHORST (*ICHNEUMONIDAE*) ET DE L'ÉPIZOOTIE A *BACILLUS THURINGIENSIS* BERLINER CHEZ *EPHESTIA KÜHNIELLA* ZELLER (*PYRALIDAE*)

1. Observation de l'épizootie *Bacillus thuringiensis* Berl. chez *Ephestia kühniella* Zell. dans un milieu naturellement contaminé

Sans mésestimer l'importance de l'introduction simultanée des entomophages et des germes dans un biotope, GRISON (1962) dans ses *Réflexions sur l'épizootiologie* indique que le rôle vecteur des insectes entomophages dans le processus de dispersion et d'infections microbiennes n'a pas été suffisamment étudié jusqu'à présent. Notons cependant que THOMPSON et STEINHAUS (1950) signalaient le rôle que pouvaient jouer, en certaines circonstances, les parasites entomophages, tandis que FRANZ et *al.* (1955) et VAGO (1962) apportaient une contribution à la transmission ou la dispersion active de viroses par d'autres insectes jouant le rôle, tantôt de vecteurs directs comme certains Hémiptères Réduvides ou de transporteurs de polyèdres d'un milieu à un autre comme certains Diptères Muscides.

Depuis, KURSTAK (1962, 1964) et BUCHER (1963) font apparaître le rôle joué par certains Hyménoptères comme *Nemeritis canescens* GRAV. et *Itoplectis conquisitor* SAY. dans l'introduction des germes chez leurs hôtes Lépidoptères (*Ephestia kühniella* ZELL., *Galleria mellonella* L.) au moment de la ponte.

En 1962, nous avons observé, dans un milieu naturellement infesté par *E. kühniella* dans la région parisienne (moulin de Bures-sur-Yvette) une importante mortalité de ce microlépidoptère due à la bactérie *B. thuringiensis*.

Selon les indications du propriétaire du moulin, aucun traitement microbiologique contre *E. kühniella* n'avait été effectué auparavant, ce qui exclut la possibilité d'une enzootie artificiellement provoquée.

Ayant choisi au hasard trois lots (I, II, III) dans les prélèvements effectués dans ce moulin, leur examen a montré que la mortalité totale des chenilles était supérieure à 50 p. 100, la mortalité due à *B. thuringiensis* variait elle-même entre 38 et 50 p. 100 ; la mortalité provoquée par des protozoaires (*Coelogregarina ephestiae* et *Nosematidae*) était comprise entre 4 et 11 p. 100, par des bactéries diverses de

1 à 4 p. 100, ou encore par des facteurs indéterminés, de 3 à 7 p. 100. Ces résultats nous les trouvons dans le tableau 8 et le graphique ci-après (fig. 27).

TABLEAU 8

Importance numérique de différents facteurs provoquant la mortalité chez E. kühniella
(Prélèvement effectué au moulin de Bures-sur-Yvette)

N° du lot examiné	Nombre de chenilles dans le lot examiné			% de chenilles mortes par				
	Total	% de vivantes	% de mortes	*Bacillus thuringiensis*	Protozoaires		Bactéries diverses	Facteurs indéterminés
					Coelogregarina ephestiae	*Nosematidae*		
I	277	48,4	51,7	38,3	1,4	2,5	4	5,4
II	186	32,8	67,2	44,6	3,8	8,6	2,7	7,5
III	223	41,3	58,7	50,2	1,4	3,6	0,9	2,7

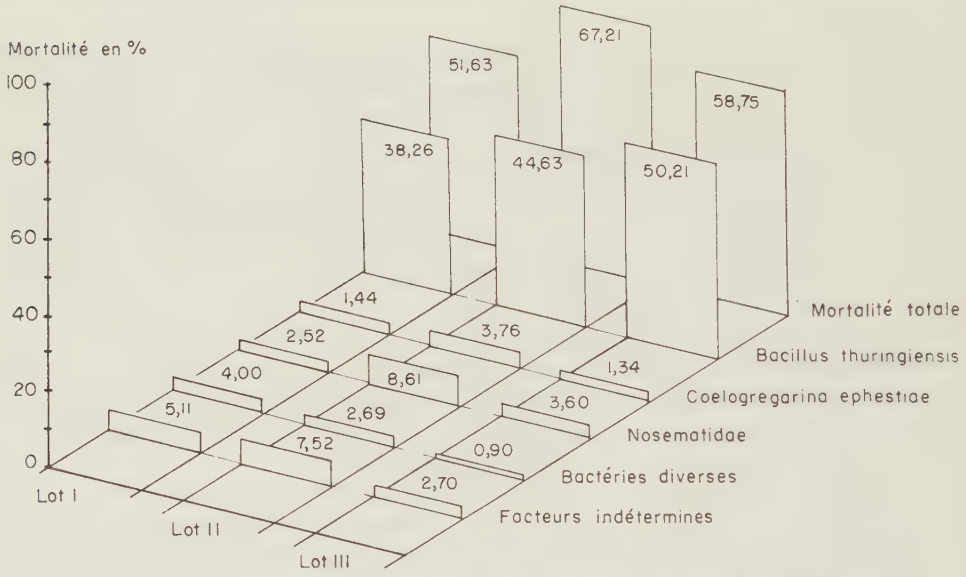


FIG. 27. — *Incidence de mortalité d'*E. kühniella *due à l'épizootie à* B. thuringiensis *et intervention d'autres facteurs dans le moulin de Bures-sur-Yvette (Seine-et-Oise)*

Dans les autres moulins prospectés nous n'avons rien trouvé de semblable, excepté au moulin de Versailles, où quelques chenilles d'*E. kühniella* étaient mortes à cause de *B. thuringiensis* ; mais, le pourcentage de mortalité restait très faible.

Étant donné que le moulin de Bures-sur-Yvette où fut observée l'épizootie était également abondamment occupé par le parasite Ichneumonide *N. canescens*, tandis

que dans les autres moulins, cet Hyménoptère était en nombre réduit ou absent, nous avons supposé qu'il pouvait y avoir une relation entre l'épizootie à *B. thuringiensis* et l'abondance de l'entomophage *N. canescens*.

L'Hyménoptère parasite pouvait peut-être faciliter la transmission de la bactérie liée à la fois à la densité numérique des populations de l'hôte et du parasite ainsi qu'à l'importance de la contamination du milieu par la bactérie.

TANADA (1961) indique que les épizooties de polyédrie et de granulose de *Pseudaletia unipuncta* HAW., sont notamment dépendantes de la densité de la population, tandis que VAGO (1962) pense que la *surpopulation*, malgré les observations remontant à près d'un siècle, reste aujourd'hui encore un ensemble écopathologique complexe à effets multiples : « prédisposants physiologiques vis-à-vis des maladies (notamment des viroses), sources de contamination microbiennes et favorisant des blessures ou des traumatismes avec ou sans infections secondaires ».

Si l'apparition brusque des maladies d'insectes surtout des viroses, n'est pas encore bien éclaircie, cependant le rôle de la « *surpopulation* » a été reconnu notamment par TUBEUF (1892), GLASER (1915), JANISCH (1936) ; et plus récemment, VAGO (1956) met en cause la « *surpopulation* » comme facteur indirect d'activation des viroses latentes et d'enchaînement des maladies.

En ce qui concerne l'intervention du parasite entomophage *N. canescens* dans cette étude épizootiologique, deux hypothèses de travail ont été suggérées :

a) Les piqûres de la tarière de *N. canescens*, au moment de l'émission de l'œuf dans le corps de la larve d'*E. kühniella* favoriseraient directement une septicémie bactérienne entraînant la mort de l'insecte-hôte selon des modalités qui resteraient à préciser ;

b) Les piqûres du parasite troubleraient l'activité de l'hôte et provoqueraient un affaiblissement physiologique de la chenille en sorte que, même sans manifestations septicémiques, les conditions favorisant l'intoxication microbienne seraient accrues.

Quelles que soient les modalités d'intervention du parasite dans la manifestation épizootique observée dans le moulin de Bures-sur-Yvette, deux types parasitaires : microbien, *B. thuringiensis* — et entomophage, *N. canescens*, dans une même population hôte d'*E. kühniella* provoque toujours une augmentation de mortalité de l'hôte due à *B. thuringiensis*, ainsi que nous l'exposerons plus loin.

2. Matériel et méthodes. Mode d'action de *Bacillus thuringiensis* Berl.

Les caractéristiques biologiques de l'hôte et de son parasite, et les méthodes expérimentales qui s'y rapportent, ont été décrits aux chapitres précédents.

Comme parasite microbien agissant pathologiquement vis-à-vis d'*E. kühniella* et également vis-à-vis d'autres Lépidotères, nous avons choisi parmi différentes souches, la souche *Bacillus thuringiensis* BERLINER var. *thuringiensis* sérotype I (d'après la classification française de de BARJAC et BONNEFOI, 1962).

Cette souche de *B. thuringiensis* provenant de l'Institut Pasteur à Paris est enregistrée sous le n° « E 61 » et sert actuellement d'étalon de référence provisoire à la suite d'un accord sur ce sujet entre les spécialistes de France et d'Allemagne (BUR-

GERJON, 1962). A ce moment, il a été fixé arbitrairement que cet étalon standard correspond à 1 000 Unités Toxicologiques *Pieris brassicae* (UTP.) par mg (BURGERJON, 1962).

L'étalon E 61 utilisé est une préparation à base de spores et cristaux toxiques de *B. thuringiensis* BERLINER var. *thuringiensis* fixée sur 78,5 p. 100 de charge inerte composée de bentonite et de débris de diatomées. D'après les comptages effectués au laboratoire de La Minière par M. BOURGUIGNON le « E 61 » contient 86×10^9 spores viables par gramme (*communication personnelle orale*) et en général $130 \cdot 10^9$ d'après KRIEG (1964).

Pour étudier les modalités d'intoxication d'*E. kühniella* par cette préparation de *B. thuringiensis*, il fallait d'abord constituer un milieu contaminé par *B. thuringiensis* dans des conditions rigoureusement définies.

A cet effet, dans tous nos essais au Laboratoire, fut utilisée la farine blanche de Beauce achetée régulièrement chez le même fournisseur. Cette farine soigneusement mélangée à la préparation bactérienne étalon E 61 constituait le milieu contaminé.

D'après les résultats des travaux de YAMVRIAS (1962) la préparation E 61 a été mélangée à de la farine à raison de 1 p. 100, 3 p. 100 et 5 p. 100. Le mélange homogène de la préparation bactérienne et de la farine a été effectué à l'aide d'un agitateur rotatif à moteur électrique.

Pour obtenir les différentes dilutions d'agents de contamination du milieu (farine) les quantités choisies de E 61 (0,2 g, 0,6 g, et 1 g) ont été additionnées à 20 g de farine et le contenu placé sur l'appareil agitateur durant 10 minutes.

Pour les expériences, un échantillon de 5 g d'aliment contaminé par *B. thuringiensis* était placé dans des boîtes en matière plastique de 9 cm $\times$ 6 cm $\times$ 2 cm et toujours en présence de 10 chenilles d'*E. kühniella* tantôt de classe I, tantôt de classe II.

Nous avons indiqué au début du chapitre précédent les caractère pour établir empiriquement deux classes de chenilles-hôtes suivant leur poids (entre 20 et 30 mg pour la classe I et 30 et 40 mg pour la classe II), correspondant aux deux derniers stades larvaires d'*E. kühniella* hôte préférentiel de *N. canescens*.

Les imagos parasites *N. canescens* de 24 heures, en nombre de 1, de 5 et de 10 étaient mis en contact avec des lots de 10 hôtes durant une période de 48 heures, ou de 24 heures dans certains cas, puis retirés de l'expérience.

Dans la plupart des cas, les résultats furent établis sur 10 répétitions de ces lots pour chaque essai.

Les lots composés ainsi nous ont notamment permis de suivre les conséquences pathologiques de l'action de la bactérie *B. thuringiensis* chez les larves d'*E. kühniella* s'alimentant à leur gré avec une nourriture contenant une dose connue de la préparation E 61, et dans ces conditions de suivre surtout les effets survenant au moment de l'intervention simultanée du parasite entomophage *N. canescens*.

Tous les essais avaient lieu à une température de + 25°C et 60-80 p. 100 H. R. avec un matériel hôte-parasite homogène, provenant des élevages standards décrits dans les chapitres précédents.

Les méthodes utilisées dans la première partie de ce travail ont également servi dans l'évaluation de la descendance et le potentiel parasitaire des *N. canescens* issus d'hôtes intoxiqués par *B. thuringiensis*.

Enfin, les contrôles bactériologiques concernant la présence de *B. thuringiensis*

sur la tarière du parasite *N. canescens* évoluant dans un milieu contaminé ou parasitant un hôte infecté par la bactérie, étaient effectués sur milieu artificiel gélosé à 15 p. 1 000 à pH 7,2 en boîte de Pétri par frottement de celle-ci à la surface de la gélose nutritive, à la manière d'un étalement de culture avec une aiguille de verre.

Avant de traiter de l'influence réciproque du parasite entomophage *N. canescens* et de la bactérie *B. thuringiensis* chez *E. kühniella*, rappelons brièvement le mode d'action de *B. thuringiensis* vis-à-vis de ses hôtes en général, et en particulier vis-à-vis d'*E. kühniella* ainsi que certaines caractéristiques de ce germe.

Bacillus thuringiensis BERLINER est une bactérie entomopathogène, aérobie sporogène et Gram-positive, laquelle en raison de son caractère obligatoirement pathogène pour les insectes et de sa production à la fois de spores et de cristaux toxiques appartient au groupe VI de la classification de STEINHAUS.

Le corps cristallin protéinique se libère, comme la spore, après la lyse du sporagène et présente une action toxique vis-à-vis d'un grand nombre de Lépidoptères (ANGUS 1954, HANNAY et FITZ-JAMES 1954, 1955, HEIMPEL et ANGUS, 1959, KRIEG 1961, YAMVRIAS 1962).

L'action pathogène de la bactérie n'est pas due seulement à la toxine cristalline ; les spores elles-mêmes peuvent agir pathologiquement et HEIMPEL et ANGUS (1959) indiquent qu'une proportion égale 50:50 de spores et de cristaux provoque le meilleur effet létal pour une concentration donnée de préparation vis-à-vis d'*E. kühniella*. Aussi d'autres substances sécrétées par la bactérie comme une lécithinase (HEIMPEL, 1955 ; TOUMANOFF, 1955), une toxine thermorésistante (MAC CONNEL et RICHARDS, 1959 ; BURGERJON et de BARJAC, 1960) augmentent son pouvoir pathogène.

En mettant en évidence la toxine thermostable produite pendant la culture de *B. thuringiensis*, MAC CONNELL et RICHARDS (1959) indiquent que sa présence dans le milieu de culture se manifeste avant la sporulation, donc avant la production des cristaux toxiques intervenant durant la sporulation. Dans le chapitre suivant, nous reviendrons sur cette condition d'action de *B. thuringiensis*.

Cette bactérie ingérée par les larves de certaines espèces de Lépidoptères provoque des maladies à symptômes parfois différents d'une espèce à l'autre. Comme l'indique GRISON (1961) « chez le Ver à soie, *Bombyx mori* L. comme chez la Piéride du chou, *Pieris brassicae* L., il y a, très peu de temps après l'ingestion, un arrêt de l'alimentation dû à une sorte de paralysie des pièces buccales et surtout à une paralysie plus ou moins totale du tube digestif, tandis qu'en même temps apparaissent des troubles intestinaux suivis ou non de diarrhée... chez d'autres chenilles, comme celle de la Teigne de la farine, *Anagasta kühniella* ZELL., la maladie est beaucoup plus complexe : elle représente d'après YAMVRIAS (1962) un enchaînement morbide constitué probablement par une toxémie chronique associée à une dysentrie... ».

C'est ainsi que ce Lépidoptère, suivant le mode d'action de *B. thuringiensis* par ingestion vis-à-vis de chenilles, a été classé dans un troisième type d'insectes (HANNAY et FITZ-JAMES, 1955 ; HEIMPEL et ANGUS, 1959 ; BURGERJON et YAMVRIAS, 1959) vis-à-vis desquelles l'efficacité mortelle a lieu si les cristaux et les spores viables sont simultanément présents dans les préparations.

HEIMPEL et ANGUS (1956, 1958, 1960), YAMVRIAS (1962) indiquent l'absence de paralysie générale chez les larves d'*E. kühniella* ayant absorbé une nourriture contaminée à *B. thuringiensis* et une réduction de consommation importante dès les premiers jours après l'ingestion, dépendant de la dose d'aliment contaminé ingéré.

Il y a concordance de nos propres observations avec celles des auteurs sur l'évolution des symptômes pathologiques chez les larves d'*E. kühniella* ayant absorbé la bactérie avec de la nourriture. Toutefois, signalons que si la cessation d'alimentation se manifeste assez rapidement chez les deux derniers stades larvaires d'*E. kühniella* par ingestion de nourriture contaminée à raison de 5 p. 100 de E 61, l'effet final d'ingestion de *B. thuringiensis* ne se manifeste qu'après 7 à 10 jours et plus, pour des doses de 1 p. 100 et 3 p. 100 de la préparation E 61.

Chez les chenilles intoxiquées, en dehors du ralentissement général de vitalité, on relève un noircissement progressif des extrémités caudale et céphalique du corps déjà observé par Yamvrias (1962). Dès l'apparition de ce symptôme, il est facile après l'examen de frottis de déceler la présence de formes végétatives de *B. thuringiensis* dans le contenu intestinal puis dans l'hémolymphe seulement dans les instants qui suivent la mort.

Mattes (1927) observe une dégradation des cellules de l'épithélium intestinal et Yamvrias (1962) mentionne le grand nombre de cellules épithéliales dans le contenu intestinal des chenilles ayant ingéré un aliment à forte concentration (20 p. 100) de *B. thuringiensis*. Ce même auteur conclut que « aucune septicémie n'ayant été décelée, la maladie observée chez *A. kühniella* résulterait d'une intoxication intestinale provoquée à la suite de l'ingestion de *B. thuringiensis* par les larves »

3. Conséquences d'une intoxication à *Bacillus thuringiensis* Berl. sur la survie, la descendance et le potentiel parasitaire de *Nemeritis canescens* Grav.

Dans nos essais, nous utilisâmes la préparation E 61 de *B. thuringiensis* précédemment caractérisée et aux doses de 1 p. 100, 3 p. 100 et 5 p. 100 dans la farine selon des normes techniques déjà décrites et appliquées à deux classes de chenilles hôtes (I — entre 20 et 30 mg ; II — entre 30 et 40 mg) correspondant aux deux derniers stades larvaires parasités par l'entomophage.

Nous avons établi d'abord un taux de mortalité de ces hôtes, dû aux doses indiquées de *B. thuringiensis* ingérées avec l'aliment contaminé. Ces taux seront comparés plus loin aux taux de mortalité d'*E. kühniella* résultant de l'action simultanée de la bactérie et de l'entomophage sur ce Lépidoptère.

Ainsi d'après les résultats obtenus avec 100 individus-hôtes par essai et par dose (1 p. 100, 3 p. 100, 5 p. 100 de E 61), la mortalité de chenilles d'*E. kühniella* due à l'intoxication à *B. thuringiensis* par voie buccale est de :

	pour 1 p. 100 E 61	3 p. 100 E 61	5 p. 100 E 61
classe I (20-30 mg)	24 p. 100	40 p. 100	61 p. 100
classe II (30-40 mg)	4 p. 100	13 p. 100	27 p. 100

a) *Mortalité de l'hôte due aux deux types parasitaires et survie de* N. canescens

Dans le cas d'une action parasitaire simultanée de *N. canescens*, il est intéressant de connaître la proportion de survie des larves de l'entomophage. Étant donné que, nous avons noté les premiers symptômes cliniques d'intoxication *per* oral à *B. thuringiensis* (1 p. 100 E 61) chez les larves âgées d'*E. kühniella* vers le 3e jours après la

mise au contact avec le milieu contaminé, notre étude concernant la survie (descendance) de l'entomophage et le pourcentage de mortalité de l'hôte était conçue de la manière suivante :

A. Action simultanée de l'entomophage et de la bactérie.
B. Parasitisme de l'hôte par l'entomophage 72 H. *avant* } la mise au contact
C. Parasitisme de l'hôte par l'entomophage 72 H. *après* } avec la bactérie
D. Action simultanée sur l'hôte de différentes doses de la bactérie et d'une quantité variable d'entomophages.

Les résultats numériques peuvent être résumés ci-dessous, d'une part, en pourcentage de survie de *N. canescens* descendance imaginale effective et d'autre part en pourcentage de mortalité de l'hôte *E. kühniella* due à *B. thuringiensis*.

	Mortalité de l'hôte due à :	
	B. thuringiensis %	*N. canescens* (descendance) %
A 5 parasites et 1 p. 100 de E 61 intervenant simultanément	41	32
B 5 parasites et 1 p. 100 de E 61 intervenant 72 h plus tard	29	70
C 1 p. 100 de E 61 et 5 parasites intervenant 72 h plus tard	33	38
D simultanément :		
1. 1 parasite + 1 p. 100 de E 61	37	40
2. 10 parasites + 1 p. 100 de E 61	91	5
3. 1 parasite + 5 p. 100 de E 61	74	13
4. 10 parasites + 5 p. 100 de E 61	99	1

(Les pourcentages furent établis à partir de 100 individus-hôtes répartis en 10 lots de 10 individus par essai.)

Nous avons observé qu'au moment d'application simultanée de l'entomophage et de la bactérie sur l'hôte (A), l'infection à *B. thuringiensis* de l'hôte a lieu surtout par la voie d'introduction du germe dans l'hémolymphe par la tarière de *N. canescens* Les modalités de cette infection seront étudiées plus loin. Cependant, notons que la mortalité de l'hôte survenant en général dans les 24 heures, l'action *per* oral de la bactérie nous semble insignifiante et la maladie importante est l'infection de l'hémolymphe d'*E. kühniella*. Cette infection est liée au superparasitisme de *N. canescens*. Par exemple d'après les résultats des essais (D) la survie et la descendance de l'entomophage est de 40 p. 100 pour l'action d'un seul parasite plus 1 p. 100 de E 61 et baisse à 5 p. 100 dès l'augmentation à 10 individus du nombre de *N. canescens*.

Nous pensons que dans ce cas du fait du superparasitisme, l'hôte recevant plusieurs coups de tarière de l'entomophage, l'infection à *B. thuringiensis* est plus accentuée. Le processus pathologique chez l'hôte est plus rapide ce qui limite les possibilités de développement de *N. canescens*. En effet, le développement de la jeune

larve est compromis à cause de la décomposition du milieu nutritif, dont le parasite devrait bénéficier.

La survie du parasite entomophage semble dépendre également de l'importance de la contamination du milieu par la bactérie et l'époque de son intervention. La descendance de *N. canescens* peut atteindre par exemple jusqu'à 70 p. 100 si l'intervention du germe a lieu seulement 72 heures après le dépôt de l'œuf du parasite (B) et elle est de 32 p. 100 seulement s'il y a intervention simultanée de ces deux types parasitaires (A).

b) *Longévité imaginale de* N. canescens *issus d'hôtes intoxiqués par* B. thuringiensis

L'objet de l'étude était de voir si l'imago conserve ses potentialités biologiques normales en cas de survie du parasite entomophage à l'intoxication à *B. thuringiensis* de son hôte.

Nous venons de démontrer, comme l'a fait par exemple Biliotti (1955, 1956) notamment pour *Apanteles glomeratus* que, dans certaines conditions de contamination du milieu par *B. thuringiensis* et du synchronisme ou non des séquences représentées par l'intoxication *per* oral des chenilles avec la bactérie et le dépôt de l'œuf de l'entomophage dans l'hôte, jusqu'à 70 p. 100 des larves de *N. canescens* pouvaient survivre à l'intoxication de l'hôte.

Nous avons donc repris nos expériences sur la biologie de l'insecte entomophage pour voir si la longévité et le potentiel de fécondité des imagos ainsi obtenus subiraient quelques altérations.

Les chenilles d'*E. kühniella* en nombre de 100, ont été parasitées par l'entomophage et 48 heures plus tard traitées avec une préparation de 1 p. 100 de E 61. Nous avons obtenu une survie de *N. canescens* de l'ordre de 54 p. 100 (54 individus) dont 50 ont servi pour l'expérience.

Voici, en moyenne, la longévité de ces imagos de *N. canescens* en jours. Entre parenthèses, les résultats concernant la durée de vie du parasite de l'hôte sain (témoin).

	Sans nourriture	Sol. 10 % de l'eau sucrée
à + 15°C	16 (17) jours	41 (43) jours
+ 20°C	7 (8) jours	24 (22) jours
+ 25°C	4 (4) jours	14 (15) jours

Ainsi, il apparaît que le développement du parasite dans l'hôte intoxiqué par *B. thuringiensis* n'a pratiquement aucune influence sur la durée de sa vie imaginale.

c) *Potentiel de fécondité chez* N. canescens *issus d'hôtes intoxiqués par* B. thuringiensis

Pour étudier le potentiel de fécondité effective (potentiel effectif de reproduction) on a constitué des lots de 10 chenilles d'*E. kühniella*, susceptibles d'être parasitées et traitées avec 5 p. 100 de E 61 (*B. thuringiensis*) dans lesquels les chenilles furent mises simultanément au contact d'une seule femelle *N. canescens* par lot.

Les imagos de *N. canescens* descendant de chenilles survivantes à l'intoxication

à *B. thuringiensis* ont été placés individuellement au contact de lots de 100 et 200 chenilles saines de l'hôte et en absence d'un milieu contaminé par la bactérie.

Le potentiel de fécondité de ces imagos se présente de la façon suivante. Entre parenthèses, les résultats concernant le potentiel de fécondité des adultes de *N. canescens* provenant des hôtes sains.

Pour	sont obtenus à + 20°C	à + 25°C
100 hôtes offerts	28 (29) imagos *N. canescens*	45 (44)
200 hôtes offerts	52 (55) imagos *N. canescens*	70 (72)

Ainsi, on constate une grande analogie entre le potentiel effectif de reproduction des imagos de *N. canescens* descendant d'*E. kühniella* intoxiqué ou non intoxiqué par *B. thuringiensis*.

Enfin, il était intéressant de voir dans quelle mesure le milieu contaminé par *B. thuringiensis* pourrait avoir une influence sur la durée de vie des imagos de *N. canescens* et sur leur comportement.

Cette étude fut effectuée dans la première partie de notre travail, mais sans la présence de la bactérie *B. thuringiensis*. Ainsi nous nous rapportons à cette étude biologique pour l'évaluation de la durée de vie imaginale du parasite au contact de son hôte. Ces résultats nous serviront de témoin.

Des lots de 100 chenilles d'*E. kühniella* (classes I et II) furent constitués en présence d'un milieu contaminé par 1 p. 100 de E 61 et 5 p. 100 de E 61 et contenant 1 entomophage *N. canescens* par répétition. Ainsi schématiquement on avait :

100 chenilles d'*E. kühniella* au contact d'un imago *N. canescens* et d'un milieu farine à 1 p. 100 de E 61 ou 5 p. 100 de E 61.

Au total 10 répétitions furent constituées pour chaque dose de E 61. Les essais ont eu lieu à + 25°C.

La longévité imaginale de *N. canescens* au contact avec le milieu contaminé est de 9,3 jours à 1 p. 100 de E 61 et de 10,2 jours pour 5 p. 100 de E 61 vis-à-vis de 10 jours pour les lots témoins où l'entomophage au contact de son hôte était exempt de la présence de *B. thuringiensis*.

B. thuringiensis n'a donc pas d'influence sur la durée de la vie imaginale des entomophages *N. canescens*. Par ailleurs, le comportement parasitaire de cet Hyménoptère ne se différenciait pas de celui des individus des lots témoins.

4. Effets de l'introduction de la tarière du parasite *Nemerites canescens* Grav. au moment de l'émission de l'œuf dans le corps de l'hôte sur l'infection bactienne à *Bacillus thuringiensis* Berl.

Reprenant l'observation mentionnée précédemment, que dans le cas d'application simultanée de deux types parasitaires : entomophage – *N. canescens* et microbien — *B. thuringiensis* sur une même population-hôte d'*E. kühniella*, il y a toujours une augmentation de mortalité de l'hôte due à la bactérie, nous avons voulu connaître l'importance numérique de cette mortalité suivant le schéma d'essais ci-après :

A. 10 chenilles en présence de farine contaminée (aux doses de 1 p. 100, 3 p. 100 et 5 p. 100 E 61).

B. 10 chenilles en présence de farine contaminée (1 p. 100, 3 p. 100 et 5 p. 100 E 61) et simultanément de 1, de 5 ou de 10 imagos de *N. canescens*.

C. 10 chenilles en présence de farine saine et de 1, de 5 ou de 10 imagos de *N. canescens*.

Provisoirement, nous prenons surtout en considération dans ce chapitre, les essais effectués avec des chenilles de la classe I pesant de 20 à 30 mg. Les essais comportant toujours 10 répétitions avaient lieu en conditions constamment identiques.

Les résultats obtenus dans la série A mettent en évidence une mortalité relativement faible de l'hôte, due à l'intoxication par *B. thuringiensis* par voie buccale, confirmant les résultats de Yamvrias (1962). Cette mortalité suivant les doses (1 p.100, 3 p. 100 et 5 p. 100 de E 61) est de 24 p. 100, 40 p. 100 et 61 p. 100 pour les chenilles de la classe I pesant de 20 à 30 mg.

Dans la série B pour les mêmes doses de *B. thuringiensis* que dans la série A, la présence simultanée de l'insecte entomophage augmente nettement les taux de mortalité de l'hôte *E. kühniella*, due à la bactérie qui est comprise entre 38 p. 100 et 99 p. 100.

Notons que l'augmentation de mortalité est encore plus nette pour les chenilles d'*E. kühniella* pesant de 30 à 40 mg puisqu'elle varie entre 33 p. 100 et 99 p. 100 après l'intervention de *N. canescens*, en comparaison avec 4 p. 100, 13 p. 100 et 27 p. 100 de larves mortes dans le cas de l'ingestion libre de spores et de cristaux de *B. thuringiensis* seulement.

Les symptômes cliniques de l'infection à *B. thuringiensis* d'*E. kühniella* dans le cas de la présence de *N. canescens* se manifestent assez brusquement à la fin des premières 24 heures dans la plupart des cas. La chenille sur toute sa partie du corps devient rapidement noire (fig. 28 *a*) et meurt ; ceci est précédé d'une paralysie progressive de l'hôte. Ces symptômes sont tout à fait différents de ceux qui résultent d'une intoxication par la toxine cristal absorbée par voie orale, tels que les a décrits Yamvrias, où dans les instants qui suivent la mort de l'hôte c'est-à-dire au plus tôt dans les 48 heures après l'ingestion d'aliment contaminé, les larves noircissent d'abord par les deux extrémités, céphalique et caudale, du corps (fig. 28 *b*) avant de présenter une mélanisation progressive.

Ainsi, dans le cas de l'infection à *B. thuringiensis* résultant de la présence du parasite entomophage *N. canescens*, la mort et la mélanisation totale du corps de l'hôte surviennent presque simultanément et dans un délai de temps deux fois plus rapide.

Nous avons donc pensé que l'infection et l'augmentation de la mortalité de l'hôte, pourraient résulter de blessures produites par la tarière de l'Hémynoptère au moment du dépôt de l'œuf. Ces blessures constitueraient également une voie de pénétration des spores de la bactérie contenues dans le milieu farine dans lequel évoluent les chenilles d'*E. kühniella*.

Il faut aussi considérer qu'après chaque piqûre, il y a une légère hémorragie par la blessure suivie d'une coagulation lente de l'hémolymphe seulement après quelques heures. Il paraît évident, comme l'indique Vago (1956) que « les infections suivant immédiatement le moment de la blessure se réalisent le mieux » pour que « dans le cas de bactéries sporogènes douées d'effets toxiques aussi bien que dans

celui de bactéries dépourvues de spores, la progression de la cicatrisation de la blessure par la mélanisation et la dessiccation de l'hémolymphe au niveau de la cuticule diminue rapidement les chances de prises ».

Deux sortes d'expériences ont été effectuées pour déceler s'il y avait effectivement introduction de la bactérie dans l'hémolymphe soit par la tarière de l'entomophage au moment de l'émission de l'œuf dans le corps de l'hôte, soit par infiltration mécanique du microbe dans l'hémolymphe facilitée par les blessures ouvertes consécutivement à l'insertion de la tarière de l'entomophage. Cette deuxième hypothèse sera abordée dans le chapitre suivant.

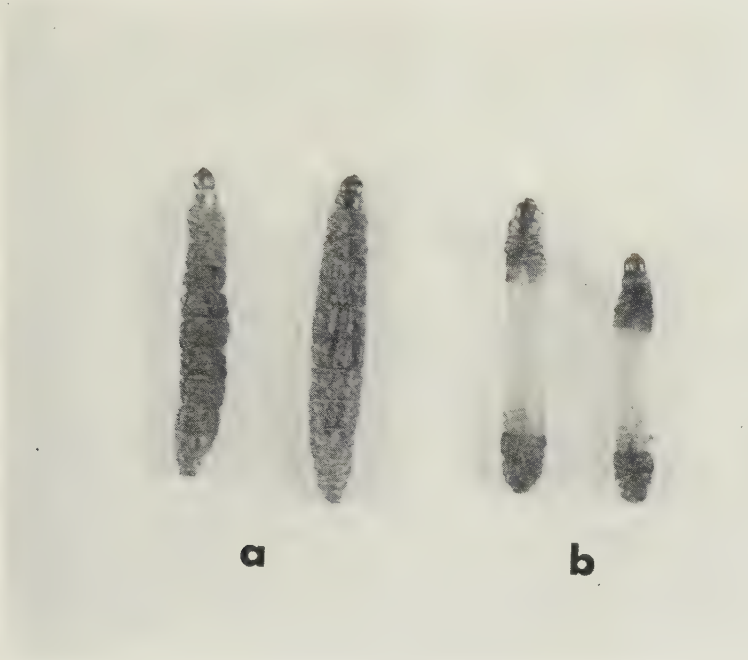


FIG. 28. — *Deux modes d'infection à* B. thuringiensis *chez* E. kühniella.

a) Symptômes d'infection viscérale à *B. thuringiensis* par l'introduction du germe à l'aide de la tarière de *N. canescens*. Aspect à la 24e heure.

b) Symptômes d'intoxication intestinale due à l'absorption buccale d'aliment contaminé. Aspect à la 50e heure.

Dans ce chapitre, nous nous proposons de vérifier d'abord la première hypothèse concernant l'introduction directe de la bactérie *B. thuringiensis* dans la cavité viscérale de l'hôte par la tarière de *N. canescens*. Dans cette intention, les séries d'essais suivants ont été réalisées :

1° des femelles de *N. canescens* ayant séjourné pendant 24 heures avec un lot de larves-hôtes placées dans un milieu farine contaminé de 5 p. 100 E 61 (*B. thuringiensis*) ont été ensuite retirées et placées dans un milieu farine saine comprenant l'hôte également sain ;

2° les tarières des parasites *N. canescens* ayant séjourné pendant 24 heures dans un milieu contaminé par *B. thuringiensis* ont servi pour l'ensemencement sur gélose nutritive ;

3° des imagos de *N. canescens* ont été placés en contact avec des chenilles d'*E. kühniella* (classe II) ayant subi une injection intrahémocélique de 0,01 ml d'une préparation de *B. thuringiensis* BERL. L'entomophage, après avoir parasité ces chenilles, est ensuite mis en contact avec les larves-hôtes saines.

Les résultats groupés dans le tableau 9 mettent en évidence une mortalité presque totale de l'hôte *E. kühniella* qui subit l'intervention simultanée des deux types parasitaires microbien et entomophage (A et A_1). Ceci se produit pour la plupart des cas, dans les premières 24 heures en présentant les symptômes cliniques qui ont été décrits auparavant.

Par contre, dans les lots B et B_1, où l'hôte sain est placé dans un milieu non contaminé par *B. thuringiensis*, les mesures de précautions prises dans les manipulations devraient limiter les risques d'infection microbienne, sauf s'il y a transmission du germe par les entomophages ayant séjourné dans les lots A et A_1 contaminés.

TABLEAU 9

Rôle du parasite N. canescens *dans la transmission du germe* B. thuringiensis

Lot	Les chiffres indiquent les pourcentages de mortalité de l'hôte *E. kühniella* due à l'infection à *B. thuringiensis* (E 61) dans les dix répétitions										Remarques sur la mortalité
A) 5 *N. canescens* en contact avec 10 hôtes *E. kühniella* en milieu contaminé par 5 % de E 61	100	100	100	90	90	90	90	80	80	70	Dans les 24 heures ou au plus tard dans les 30 heures.
B_1) après 24 heures, 5 *N. canescens* du lot A en contact avec 10 hôtes sains en milieu non contaminé :	30	30	30	20	20	10	10	—	—	—	Dans les 24 heures et jusqu'à la 40e heure
A_1) 10 *N. canescens* en contact avec 10 hôtes *E. kühniella* en milieu contaminé par 5 % E 61 :	100	100	100	100	100	90	90	90	80	70	Dans les 24 heures.
B_1) après 24 heures, 10 *N. canescens* du lot A^1 en contact avec 10 hôtes sains en milieu non contaminé :	80	70	60	50	50	50	40	40	30	30	Dans les 24 heures.

D'après les résultats rassemblés dans le tableau 9 il y aurait après transfert du parasite transmission du germe *B. thuringiensis* par l'entomophage d'une part selon qu'il ait séjourné auparavant au contact du milieu contaminé (A et A_1) ou bien, d'autre part, qu'il ait provoqué l'infection des chenilles saines dans un milieu non contaminé (B et B_1).

Des résultats obtenus, on peut dire que l'importance de la mortalité de l'hôte *E. kühniella* est en rapport avec le nombre de *N. canescens* parasitant une population donnée (voir B et B_1).

Dans la deuxième série d'expérience (2e) nous avons renouvelé cinq essais du

lot A (tabl. 9) et prélevé les imagos de *N. canescens* après 24 heures de contact avec l'hôte et le milieu contaminé par *B. thuringiensis* (E 61, 5 p. 100) pour les amputer de leur tarière. Celle-ci fut aussitôt déposée sur le milieu gélosé mis en étuve à incubation (30°C) ; 18 heures plus tard apparaît une culture pure de *B. thuringiensis*. Cette opération renouvelée plusieurs fois donne des résultats semblables ce qui permet de penser à la souillure par le germe de la tarière de *N. canescens* ayant séjourné durant 24 heures au contact d'un milieu contaminé par *B. thuringiensis*.

Dans la troisième série d'essais (3e) consistant en épreuves individuelles et quantitatives, des imagos de *N. canescens* au nombre de 5 par boîte, ont été placés au contact de chenilles d'*E. kühniella* (classe II) ayant subi une injection intrahémocyclique ventrale de 0,01 ml de l'inoculum pathogène. Cet inoculum constitué de 50 spores environ de *B. thuringiensis* BERLINER dans 0,01 ml de l'eau physiologique stérile injecté par individu-hôte provoque une infection bactérienne chez les chenilles d'*E. kühniella*, selon un processus pathologique et dans des conditions expérimentales qui seront décrites d'une manière plus précise au chapitre suivant.

Les femelles de *N. canescens*, après avoir parasité l'hôte ainsi infecté, étaient ensuite placées au contact de l'hôte sain. Celui-ci après avoir été parasité à son tour présentait les symptômes de l'infection à *B. thuringiensis* provoquant une mortalité de 60 p. 100 environ dans les lots d'essai.

Des essais identiques furent d'ailleurs antrepris avec *Serratia marcescens* provoquant la mortalité des chenilles dans les 20 heures environ après l'injection. *N. canescens* parasite les chenilles malades mais évite les chenilles mortes. Lorsque l'entomophage avait pondu dans les chenilles malades, il était placé ensuite avec des chenilles saines pour les parasiter à leur tour. Celles-ci manifestaient alors des symptômes cliniques et morbides de la maladie *Serratia marcescens*.

Les examens hématologiques effectués durant la maladie des individus infectés par la tarière contaminée de *N. canescens* confirmaient la présence des bactéries dans l'organisme de la chenille-hôte.

D'autre part, nous avons contrôlé par ensemencement sur milieu gélosé, la présence des bactéries (*B. thuringiensis* d'une part et *S. marcescens* d'autre part) sur les tarières de 19 sur 25 individus de *N. canescens* ayant parasité un hôte infecté.

5. Effets du superparasitisme de *Nemeritis canescens* Grav. et de la teneur en matière infectante

Nous avons rapporté dans le chapitre II concernant l'étude biologique de *N. canescens* que, dans certaines conditions de surpopulation du parasite entomophage, il peut se manifester des cas de mortalité de l'hôte due uniquement au phénomène de superparasitisme ; du fait de celui-ci un nombre exagéré de piqûres parasitaires entrave le développement physiologique normal de l'animal-hôte attaqué. La multiplicité de perforations de ponte peut provoquer une traumatisation mortelle de l'hôte au stade actif ou inactif. Un phénomène semblable a été observé par SALT (1936) qui indique une augmentation considérable de la mortalité des œufs de *Sitotroga cerealella* en relation avec la densité des femelles de *Trichogramma evanescens* ; le pourcentage de mortalité de l'hôte passe alors de 5,4 p. 100 en absence de

parasite à 73, 7 p. 100 quand il y a 50 femelles de *T. evanescens* pour 100 œufs.

Dans le cas de nos expériences, nous rappelons qu'il n'existe aucun effet de ce genre de mortalité pour un rapport parasite-hôte allant jusqu'à 10:10 et restant en contact pendant 48 heures ; nous avons donc conservé ce rapport dans tous nos essais sur l'influence de *N. canescens* dans le déclenchement de l'infection à *B. thuringiensis* chez *E. kühniella*, et malgré la présence d'un superparasitisme assez élevé, nous n'avons pas constaté de mortalité de l'hôte due uniquement aux traumatismes provoqués par la tarière.

Nous avons voulu nous rendre compte dans les mêmes rapports de populations si la présence de *B. thuringiensis* dans le milieu modifiait les taux de mortalité de l'hôte.

Comme dans les essais précédents, c'est la préparation bactérienne E 61 de *B. thuringiensis* qui fut utilisée et mélangée à la farine constituant un milieu contaminé à 1 p. 100, 3 p. 100 et 5 p. 100 de E 61.

Successivement chaque lot à différentes dose de E 61 comprenait 10 larves-hôtes et 1, 5 ou 10 parasites entomophages au contact pendant une durée de 48 heures (fig. 29 série B).

Les deux classes de l'insecte-hôte furent prises en considération (classe I, larves de 20 à 30 mg et classe II, larves de 30 à 40 mg).

Les essais de la série A — classes I et II — où les larves subissent une intoxication à *B. thuringiensis per* oral en absence de l'intervention de *N. canescens* servent de témoin de comparaison vis-à-vis de la série B où les deux types parasitaires microbien et entomophage intervenaient simultanément sur l'hôte.

Chaque dose de la préparation de *B. thuringiensis* fut utilisée à trois reprises en présence de 1, 5 et 10 individus du parasite entomophage, toujours pour 10 larves hôtes par boîte d'essai.

Dix répétitions de chaque essai furent prises en considération et les résultats présentés dans la figure 29 ci-après.

Comme nous l'avons déjà mentionné, les résultats obtenus dans la série A mettent en évidence une mortalité relativement faible de l'hôte due à l'intoxication de chenilles à *B. thuringiensis* par voie buccale. Dans cette série d'essais (A_1, A_3, A_5), il y a seulement l'intervention du parasite microbien *B. thuringiensis* absorbé avec la nourriture par les larves d'*E. kühniella*.

Ces résultats doivent être comparés aux pourcentages de mortalité de l'hôte obtenus dans la série B, dans laquelle des parasites entomophages ont été simultanément mis en présence des mêmes hôtes.

Les résultats dans les deux classes de la série B démontrent d'une part, qu'avec l'accroissement successif du nombre de parasites entomophages pour la même dose de la bactérie *B. thuringiensis*, il y a une augmentation nette de la mortalité de l'hôte due au germe. Par exemple, dans les essais à 1 p. 100 de E 61 (classe II), la mortalité de 33 p. 100 correspondant à l'intervention d'un seul *N. canescens* passe à 69 p. 100 et 96 p. 100 si le nombre d'entomophages présents est respectivement de 5 et de 10 individus. D'autre part, la mortalité croît aussi avec la dose de *B. thuringiensis* utilisée. Prenons, comme exemple, les résultats de la classe II et concernant l'intervention d'un seul *N. canescens* pour l'emploi de différentes doses de 1 p. 100, 3 p. 100, et 5 p. 100 de la préparation bactérienne E 61 : les pourcentages de mortalité sont respectivement de 33 p. 100, 44 p. 100 et 83 p. 100.

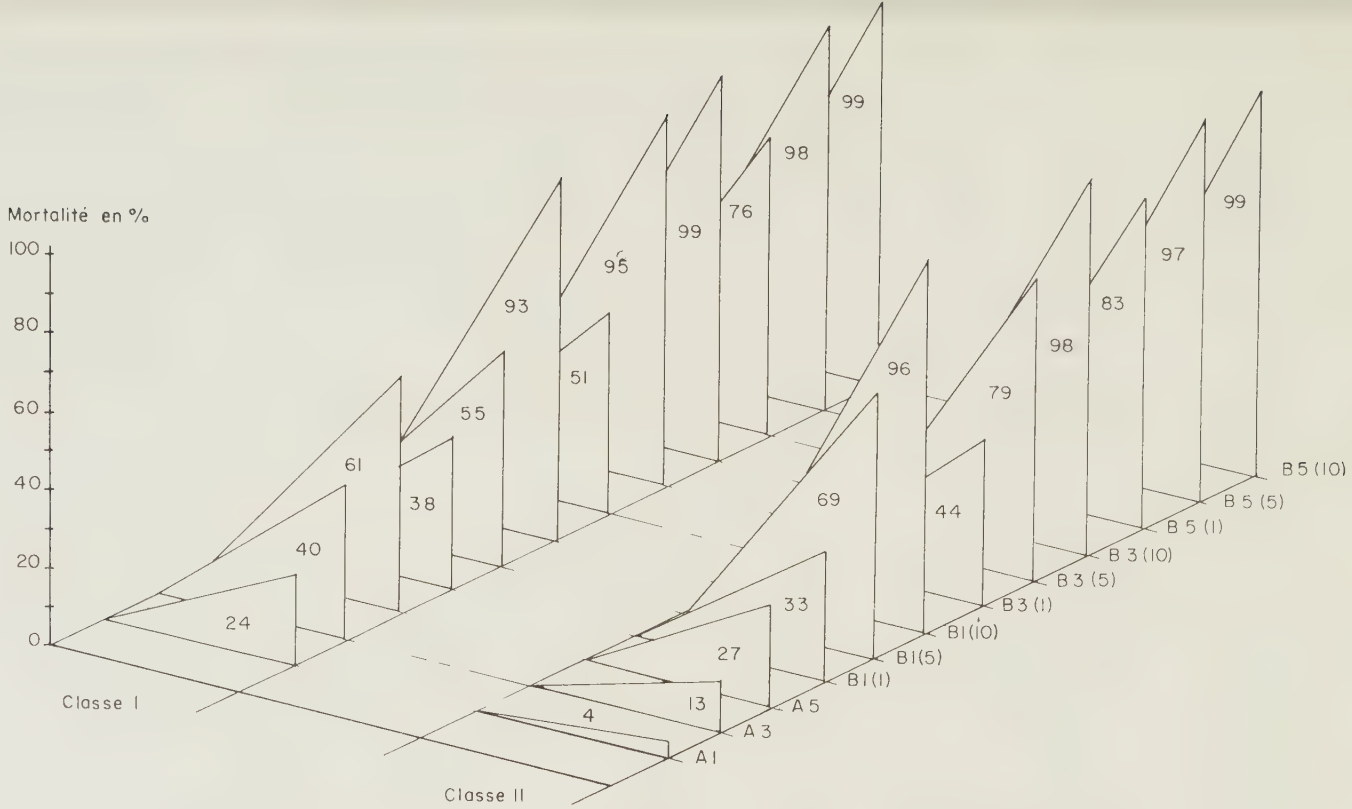


FIG. 29. — *Taux de mortalité de larves d'*E. kühniella *due à* B. thuringiensis *suivant l'application simultanée de différentes doses de la bactérie et de différentes quantités du parasite* N. canescens, *ou du germe seulement* (Rôle du superparasitisme de *N. canescens*).

Légende A. Action *per* orale de *B. thuringiensis* (E 61).
A_1. Mortalité due à 1 p. 100 E 61.....
...A_5. Mortalité due à 5 p. 100 E 61.
B. Action de *B. thuringiensis* approprié de *N. canescens*.
B_1 (1). Mortalité due à 1 p. 100 E 61 et 1 imago *N. canescens*.....
...B_5 (10). Mortalité due à 5 p. 100 E 61 et 10 imagos de *N. canescens*.
Classe I. Chenilles de 20 à 30 mg. Classe II. Chenilles de 30 à 40 mg.

6. Discussion et conclusions

Dans ce chapitre, nous avons abordé les questions de l'influence réciproque du parasite entomophage *N. canescens* et de l'infection à *B. thuringiensis* chez *E. kühniella*. Le thème de recherches est dû à l'observation d'une épizootie à *B. thuringiensis* sur *E. kühniella* dans un milieu naturellement infesté par ce Lépidoptère et contaminé par la bactérie.

L'épizootie à *B. thuringiensis* s'est avérée importante et la mortalité des chenilles d'*E. kühniella* se situait entre 38 et 50 p. 100.

Du fait de la présence en grand nombre de l'entomophage *N. canescens* parasitant les chenilles d'*E. kühniella*, une relation entre le parasitisme de l'entomophage et l'infection à *B. thuringiensis* de l'hôte *E. kühniella* fut supposée.

Les résultats d'expériences qui viennent d'être relatés démontrent le rôle joué par *N. canescens* dans l'infection microbienne de l'hôte. Nous discuterons des résultats plus loin, tandis que, maintenant, nous nous proposons d'aborder les conséquences d'une intoxication à *B. thuringiensis* sur la survie, la descendance et le potentiel parasitaire de *N. canescens*.

Ainsi, les résultats d'essais indiquent que la survie du parasite entomophage se développant dans un hôte intoxiqué par la bactérie, dépend de l'importance de la contamination du milieu par *B. thuringiensis* et de l'époque de l'intervention du germe. L'intervention simultanée de l'entomophage et de la bactérie favorise toujours l'action du germe et le taux de survie (descendance) de *N. canescens* est moins important que dans le cas, où la bactérie agit par exemple 72 heures après l'action parasitaire de *N. canescens*. Alors dans ce dernier cas, le taux de descendance de l'entomophage peut aller jusqu'à 70 p. 100.

Cependant, les infections de l'hémolymphe de l'hôte par introduction par la tarière d'un nombre élevé d'éléments bactériens due surtout au phénomène du superparasitisme de *N. canescens* compromettent le développement du parasite entomophage à cause de la mort rapide d'*E. kühniella*.

Dans le cas d'une descendance de *N. canescens* provenant d'hôtes intoxiqués par *B. thuringiensis*, il était intéressant de connaître dans quelle mesure les potentialités biologiques des parasites en seraient affectées. Les résultats obtenus mettent clairement en évidence que la durée de la vie imaginale, le comportement général et surtout le potentiel de fécondité des entomophages ne sont pas modifiés d'une façon significative par rapport aux témoins-imagos descendant d'une population-hôte non intoxiquée par la bactérie. Ainsi, les portentialités biologiques de *N. canescens* ne semblent pas être affectées par un contact du parasite avec un milieu contaminé par *B. thuringiensis* au cours de la recherche de l'hôte.

Des travaux précédents (Biliotti, 1956; Steinhaus, 1957; Isakova, 1958; Krieg et Franz, 1959; Wilson, 1962; Euverte et Martouret, 1963) il s'avère que la bactérie *B. thuringiensis* pathogène pour certains Lépidoptères est en même temps sélective, non pathogène pour un nombre d'insecte à rôle utile, comme les Abeilles, ou d'autres auxiliaires appartenant à l'ordre des Hyménoptères. Biliotti (1956) démontrait par exemple que *Apanteles glomeratus* L., *Anilastus ebeninus* GRAV., parasites de *Pieris brassicae* n'étaient absolument pas incommodés lorsque l'hôte dans lequel ils achevaient leur développement était infecté par *B. thuringiensis*. Ces

propos semblent être aussi valables pour le cas de l'Ichneumonide *N. canescens* parasite d'*E. kühniella*.

De l'étude portant sur l'influence du parasite *N. canescens* dans le déclenchement de l'infection à *B. thuringiensis* chez *E. kühniella*, les hypothèses posées ont été l'objet de travaux expérimentaux et d'observations au laboratoire et dans la nature, desquels nous mettons en évidence le rôle vecteur de l'entomophage dans la transmission et l'infection microbienne chez l'hôte Lépidoptère.

D'abord de notre travail, nous pouvons dégager deux modes d'intervention de *B. thuringiensis* vis-à-vis d'*E. kühniella*.

Le premier, expérimenté surtout par YAMVRIAS (1962), résulte de l'intoxication *per* orale des chenilles d'*E. kühniella*. L'hôte ayant absorbé la bactérie contenue dans la nourriture présente, au-delà de 48 heures après l'ingestion, des symptômes consistant en un arrêt de l'alimentation de la chenille, tandis que la mélanisation progressive des téguments débute par les deux extrémités, céphalique et caudale du corps. L'évolution des symptômes cliniques est lente et la mortalité survient tardivement, vers le 3e ou 4e jour en général, et dépend de la quantité d'aliment contaminé absorbé par l'individu hôte.

Le deuxième mode d'intervention de *B. thuringiensis* est celui de l'infection de l'hémolymphe de la chenille *E. kühniella* due à l'introduction de la bactérie dans la cavité viscérale de l'hôte par la tarière souillée du germe durant la ponte parasitaire de *N. canescens*, ou due à l'injection artificielle dans l'hôte d'un certain inoculum de bactérie (voir chap IV). Dans la plupart des cas, l'infection de l'hémolymphe entraîne la mortalité de l'hôte dans les premières 24 heures et les symptômes cliniques de la maladie sont différents de ceux de l'intoxication intestinale. Le corps de l'hôte devient rapidement et complètement noir. La mélanisation rapide et la mort de la chenille sont précédées d'une paralysie progressive de l'hôte.

Comme nous l'avons observé l'infection de l'hémolymphe de l'hôte par la tarière a lieu dans le cas où l'entomophage en recherchant ses hôtes dans le substrat contaminé souille en même temps sa tarière avec *B. thuringiensis*. Cette contamination de la tarière peut s'effectuer également lorsque l'entomophage introduit sa tarière dans une chenille déjà infectée par la bactérie en y déposant son œuf.

Dans ce dernier cas, le parasite *N. canescens* après avoir parasité l'hôte malade peut réinfecter un hôte sain s'il le parasite à son tour. En effet, les contrôles bactériologiques des tarières de *N. canescens* parasitant l'hôte, soit dans un milieu contaminé par *B. thuringiensis*, soit un hôte infecté auparavant, notamment par injection intra-hémocylique artificielle, révèlent la présence du germe sur ces tarières.

Il apparaît donc que, l'introduction de *B. thuringiensis* dans la cavité viscérale d'*E. kühniella* par la tarière de *N. canescens* provoque des actions pathogènes subaiguës pouvant déclencher des crises aiguës dans une population si les différents facteurs en cause présentent certains rapports quantitatifs élevés. Il a été effectivement observé que les incidences épizootiques à *B. thuringiensis* dans une population donnée d'*E. kühniella* dépendaient étroitement notamment du superparasitisme de *N. canescens* et de la teneur en matière infectante. Il y avait toujours une augmentation de mortalité de l'hôte avec l'accroissement du nombre d'entomophages et de la dose de la préparation bactérienne au contact d'*E. kühniella*.

Généralisant tous nos résultats d'expériences, nous pouvons dire que dans le cas de la présence simultanée de deux types parasitaires microbien *B. thuringiensis* et

entomophage *N. canescens*, il y a toujours augmentation chez le même hôte *E. kühniella* de la mortalité à origine microbienne due à l'intervention de l'entomophage.

Ainsi l'observation d'une épizootie naturelle à *B. thuringiensis* chez *E, kühniella* dans un milieu naturellement contaminé par le germe et en présence d'une importante population de *N. canescens* nous fait envisager l'existence d'une relation entre l'hôte et les deux types parasitaires dans le déclenchement de l'épizootie bactérienne.

CHAPITRE IV

ÉTUDE ET INTERPRÉTATION HISTOPATHOLOGIQUE DU COMPLEXE PATHOLOGIQUE « BLESSURE-INFECTION » BACTÉRIENNE A *BACILLUS THURINGIENSIS* BERLINER CHEZ *EPHESTIA KÜHNIELLA* ZELLER

1. Mise en évidence du complexe

VAGO (1956) dans son travail sur « l'enchaînement des maladies chez les insectes » indique l'observation de cas spontanés d'infections, cryptogamiques bactériennes et virales sur divers insectes. En même temps, il remarque sur ces insectes des signes de mélanisation cutanée indiquant des blessures hémorragiques. Ceci lui avait fait envisager l'étude des relations entre la blessure et l'infection.

Avant l'étude de VAGO, quoique le rapprochement entre blessures et maladies microbiennes n'avait pas échappé aux auteurs, les données étaient présentées plutôt sous forme de remarques. En 1896, SNOW observe que des adultes de *Blissus leucopterus* SAY. affaiblis ou blessés sont plus prédisposés vis-à-vis de *Beauveria globulifera* SPEG., que les individus sains. D'autre part, d'après NORTHRUP (1914) l'infection à *Micrococcus nigrofaciens* NORTH. évolue plus rapidement par des traumatismes, tandis que TAUBER (1940) pense que *Micrococcus pyogenes albus* ROS. pénètre vraisemblablement dans la cavité générale de *Blatta orientalis* L. par le tégument facilement lésé après la mue (cité par VAGO). STEINHAUS (1963) indique également que les blessures peuvent faciliter les infections microbiennes.

VAGO, dans son travail, avait « recherché le mécanisme du complexe dans lequel la blessure est considérée comme premier processus pathologique et l'infection survenue par suite de celui-ci comme une seconde phase ». Les infections spontanées qu'il a observées étaient dues aussi bien aux mycoses, aux viroses, qu'aux bactérioses. L'une d'elles se rapporte à une bactériose à *Bacterium paracoli aerogenoides* chez les larves de *Sesamia nonagrioïdes* LEF. (Lepidoptera), lesquelles après un certain temps « perdent leur turgescence et subissent un relâchement musculaire, puis se maintiennent pendant plusieurs jours dans cet état et meurent après immobilisation progressive ».

Par examen hématologique et par isolement sur milieux gélosés, il retrouve dans l'hémolymphe les signes d'une septicémie bactérienne, pouvant être précédée par les lésions traumatiques mises en évidence par examens histologiques.

Cet auteur indique que « parmi les bactéries étudiées, la souche *alesti* de *Bacillus cereus* peut se fixer sur les lésions préalables et réaliser souvent des septicémies secon-

daires, bien que dans la maladie spontanées ce germe ne soit un agent de septicémie que chez les insectes d'abord paralysés par son action toxémique ».

En étudiant le complexe d'une blessure cutanée hémorragique avec infection parasitaire à *Bacillus cereus*, souche « Anduze » chez *Bombyx mori*, VAGO conclut que dans certaines conditions on assiste au développement d'une septicémie généralisée ».

A notre connaissance, l'étude d'un enchaînement pathologique provoqué par la blessure résultant de la piqûre d'un entomophage endoparasite tel *N. canescens* au moment de la ponte et favorisant l'établissement d'une infection microbienne à *B. thuringiensis* chez *E. kühniella* n'avait pas encore été approfondie.

Après avoir mis en évidence, dans le chapitre précédent, que *B. thuringiensis* dans une certaine proportion pouvait être transporté par la tarière de *N. canescens* évoluant dans un milieu contaminé par le germe, nous avons aussi émis l'hypothèse qu'en dehors de l'introduction directe de la bactérie par la tarière, le germe pourrait pénétrer passivement par la voie de blessures inondées de l'hémolymphe de l'hôte venant d'être parasité.

2. Résultats expérimentaux concernant les rapports entre blessures artificielles et l'infection bactérienne *Bacillus thuringiensis* Berl.

L'hôte, les chenilles d'*E. kühniella* parasité par *N. canescens*, présentent une ou plusieurs blessures du fait de l'insertion de la tarière déposant l'œuf. La cicatrisation complète de la plupart des blessures demande 2 ou 3 jours, tandis que l'hémolymphe coagule dans la plaie en quelques heures. On peut admettre que c'est surtout dans la phase initiale que les blessures hémorragiques sont profitables à l'enchaînement d'une infection, dont la possibilité est certainement accrue par leur nombre, autant que par les déplacements des chenilles parasitées par l'entomophage, dans un milieu farine fortement contaminé par la bactérie *B. thuringiensis*.

Nous avons donc envisagé de procéder à une étude expérimentale de ces phénomènes « blessure-infection » à l'aide de blessures artificielles sur des chenilles (classe II) d'*E. kühniella* en conditions hygiéniques exigées. Ensuite, une partie des chenilles était placée dans la farine contaminée par *B. thuringiensis* (1 p. 100, 3 p. 100 et 5 p. 100 de E 61) et les chenilles de l'autre partie furent saupoudrées avec une préparation de 3 p. 100, 5 p. 100 et 100 p. 100 de E 61.

Les chenilles, après poudrage, étaient placées dans des boîtes plastiques où les possibilités d'intoxication par voie buccale n'existaient pas. Des lots de 50 et 100 chenilles furent constitués, tandis que le nombre de blessures artificielles était de 1 et 5 par individu.

Les résultats de ces expériences présentés dans le tableau 10 ci-après montrent que, dans les deux types d'essais, il se manifeste une nette augmentation de mortalité due à *B. thuringiensis*, par rapport aux chenilles intoxiquées uniquement par voie buccale (mortalité de 4 p. 100, 13 p. 100 et 27 p. 100 pour 1 p. 100, 3 p. 100 et 5 p. 100 de E 61 non rapportée dans le tableau) et au témoin ayant subi des piqûres sans infection microbienne.

La mortalité de chenilles augmente avec le nombre de blessures provoquées, et de même avec la dose de la préparation bactérienne de *B. thuringiensis*. Par exemple,

pour la dose de 5 p. 100 de E 61 la mortalité des chenilles d'*E. kühniella* ayant une blessure est de 30 p. 100 tandis qu'elle atteint 90 p. 100 pour 5 blessures.

Les chenilles ayant subi des piqûres artificielles et mises dans la farine saine ont une mortalité qui est sans importance (2 p. 100) pour une blessure et de 11 p. 100 pour cinq blessures. La mortalité évoquée résultait surtout d'accidents techniques de manipulations.

TABLEAU 10

*Mortalité de chenilles d'*E. kühniella *due à* B. thuringiensis *suivant le nombre de piqûres artificielles provoquées, la dose et le mode d'intervention de la préparation bactérienne*

Nombre de chenilles expérimentées	Nombre de blessures par chenille	Dose de E 61 (*B. thuringiensis*) (%)	Mortalité de chenilles due à (*B. thuringiensis*) (%)	Remarques	
100	1	1	8	Chenilles blessées artificiellement et placées dans le milieu contaminé par *B. thuringiensis*	Mortalité dans les 24 heures pour 5 p. 100 et 3 p. 100 de E 61 et 5 blessures, allant à 48 h pour 1 % E 61
		3	20		
		5	30		
50	5	1	22		
		3	62		
		5	90		
100	1	3	6	Chenilles blessées artificiellement et saupoudrées avec une préparation de *B. thuringiensis*	
		5	17		
		100	29		
50	5	3	40		
		5	76		
		100	100		
100	1	—	2	Témoin (sans intervention de *B. thuringiensis*)	
100	5	—	11		

L'accroissement de mortalité avec le nombre de piqûres est comparable à celui observé dans le cas de superparasitisme de *N. canescens* où chaque larve-hôte reçoit un nombre plus ou moins grand de coups de tarière (fig. 29, chap. III). Ainsi, les blessures provoquées par le parasite Hyménoptère, comme le prouvent les expériences à l'aide de blessures artificielles, servent de voies de pénétration du germe *B. thuringiensis*. Ceci est surtout confirmé par les essais de saupoudrages de chenilles blessées artificiellement avec différentes doses de la préparation bactérienne. Dans ce cas précis, il y a aussi mortalité de l'hôte due à *B. thuringiensis* qui, suivant les conditions imposées par l'expérience pouvait intervenir uniquement par les lésions épi-

dermiques provoquant une infection bactérienne septicémique distincte de l'intoxication classique par ingestion de spores et de cristaux de *B. thuringiensis*.

Nous nous proposons de définir maintenant certaines modalités de cet « enchaînement pathologique ».

3. Pathogenèse du complexe

Nous nous sommes proposé de suivre le déroulement du processus de contamination et le mécanisme d'action de *B. thuringiensis* introduit par le parasite Hyménoptère dans l'hémolymphe d'*E. kühniella* en deux phases :

A. — Le processus de l'infection a «B. thuringiensis» chez « E. kühniella » déclenché par le parasitisme de « N. canescens »

Pour expliquer le processus de cette infection à *B. thuringiensis*, nous avons envisagé la reproduction du parasitisme d'*E. kühniella* par *N. canescens* dans des conditions expérimentales et l'examen cytologique des tissus de l'hôte à divers moments après la contamination.

La souillure de la tarière du parasite entomophage a été réalisée par la préparation étalon E 61 du sérotype I de *Bacillus thuringiensis* BERLINER var. *thuringiensis* (de Barjac, Bonnefoi, 1962). Celle-ci a été mélangée à de la farine à raison de 5 p. 100. En effet, dans des conditions naturelles, la tarière de *N. canescens* peut s'infecter non seulement en parasitant un insecte malade, mais également au contact de la farine contaminée dans laquelle il cherche son hôte comme nous l'avons démontré précédemment.

Après prélèvement d'hémolymphe, les larves-hôtes du dernier stade d'*E. kühniella* ont été fixées dans les liquides de Carnoy et de Bouin, toutes les heures à partir du moment de l'introduction de la tarière contaminée du parasite *N. canescens*.

Les frottis hématologiques ont été colorés selon Pappenheim et les coupes histologiques par hémalun-éosine-orange pour l'étude topographique générale, par la technique de Giemsa adaptée aux coupes et par la méthode à la brésiléine (Calmette et *al.* 1948) afin d'obtenir la distinction des corps bactériens par rapport à la structure des tissus.

A 23°C, pendant 7 à 9 heures, l'hôte parasité ne présente aucun symptôme pathologique. A partir de ce délai la chenille présente une certaine torpeur, évoluant vers la paralysie. Après 14 à 15 heures, un relâchement musculaire généralisé se manifeste. L'immobilité totale s'installe par la suite et les larves meurent après un délai de 19 à 22 heures en général. La mélanisation suit rapidement.

Sur les coupes histologiques préparées en série, on peut reconnaître l'endroit précis de l'introduction de la tarière (fig. 30). Pendant les premières heures après la ponte du parasite, la rupture de la chitine et le déchirement de l'hypoderme sont accompagnés par la formation des taches mélanisées autour des lésions, d'une réaction hémocytaire assez intense dans le cas d'une blessure infectée, ce qui dénote un processus pathologique ; on aperçoit également à proximité du passage de la tarière quelques éléments bactériens de la taille et de la forme de *B. thuringiensis* (fig. 31)

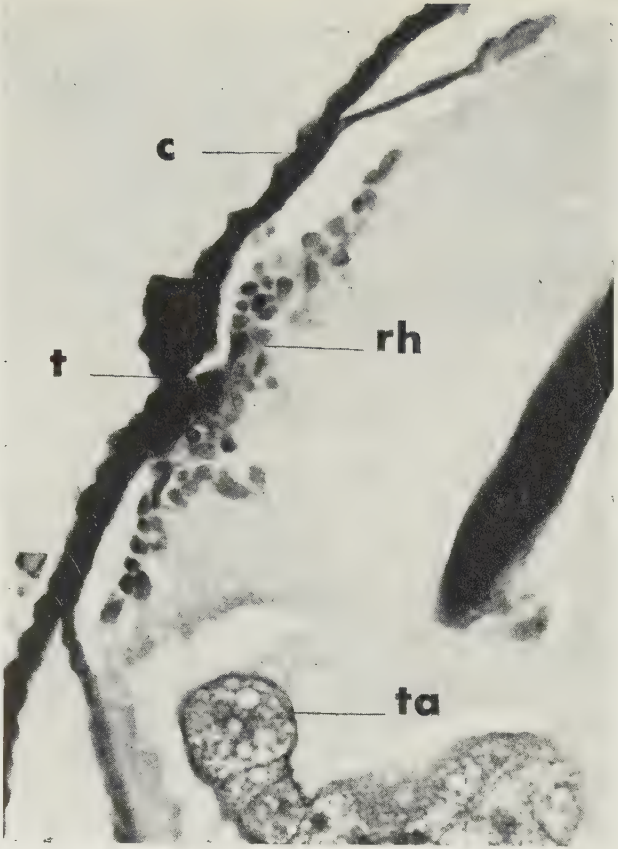


FIG. 30. *Réaction hémocytaire contre la blessure causée par la tarière du parasite* N. canescens
Coloration selon la technique de Giemsa (× 360)
c : chitine, rh : réaction hémocytaire,
t : blessure due au passage de la tarière,
ta : tissu adipeux.

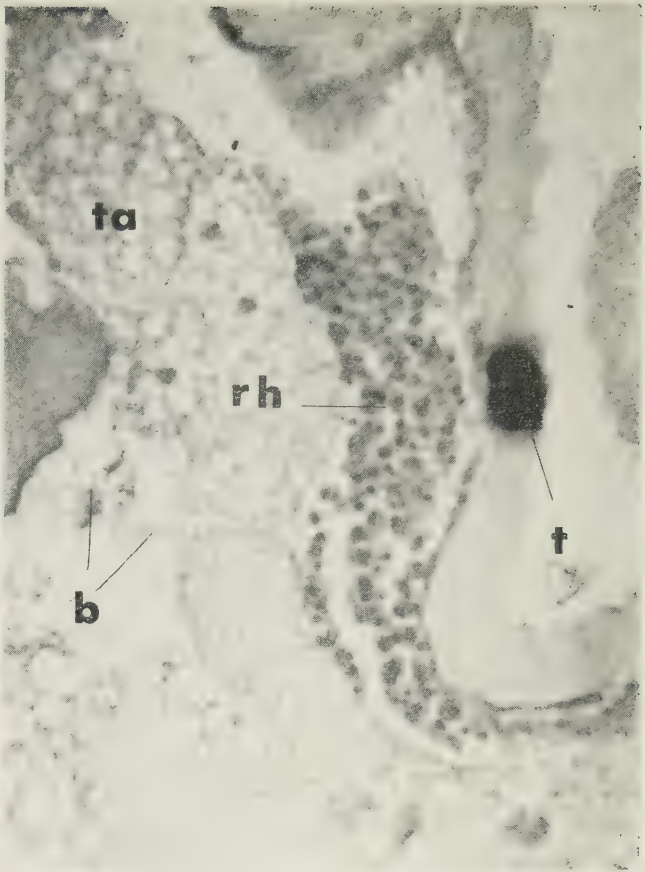


FIG. 31. *Réaction hémocytaire contre la blessure due au passage de la tarière* N. canescens *Présence de quelques bactéries* B. thuringiensis *à proximité du passage de la tarière*
Coloration hémalun-éosine-orange (× 500)
b : bactéries *B. thuringiensis*, rh : réaction hémocytaire
t : blessure due au passage de la tarière
ta : tissu adipeux

Au bout de 7 à 8 heures, nous assistons à une accumulation progressive des hémocytes autour de la blessure. Cette réaction est comparable non seulement du point de vue cytologique mais aussi en ce qui concerne la rapidité de son évolution à celle signalée chez les Lépidoptères par Vago (1956) et par Heitor (1962) après blessure hémorragique cutanée expérimentale. D'après ces travaux, l'affluence massive des hémocytes a lieu, dans le cas d'une blessure non infectée, au bout de 18 à 24 heures. Nous avons pu noter l'accolement des hémocytes contre les lésions seulement avant 10 à 12 heures, car après ceux-ci dégénèrent sous l'effet de *B. thuringiensis* et la réaction s'arrête. Seulement quelques cas de phagocytose sont notés chez les micronucléocytes.

Durant une deuxième phase, allant jusqu'à la 13e heure environ, les symptômes pathologiques nets apparaissent consistant en une paralysie de plus en plus marquée. Parallèlement, les cellules sanguines présentent des altérations progressives sous forme de vacuolisation et la désagrégation de leur cytoplasme (fig. 32 et 33). Malgré la présence de ces lésions, on n'a pas noté, pendant cette période, ni sur étalements d'hémolymphe, ni sur coupes histologiques, le développement de formes végétatives des bactéries introduites.

Ce n'est que durant une dernière période, lorsque les cellules sanguines sont déjà en grande partie détruites, que nous assistons à la formation de foyers de bactéries (fig. 34 et 35), ensuite, à la multiplication rapide de ces dernières dans l'hémolymphe et l'envahissement de toute la cavité générale et même les tissus adipeux et hypodermiques, et pénétration de ces bactéries dans l'intestin (fig. 36, 37, et fig. 38, témoin non infecté). L'hôte meurt alors de septicémie généralisée.

La mise en parallèle des observations cliniques, histologiques et hématologiques schématisée sur le tableau nº 11, relève un décalage entre le comportement pathologique et l'état des hémocytes d'une part, et le développement des bactéries d'autre part. La forte paralysie correspond, en effet, à l'altération des cellules sanguines et précède largement le développement bactérien intense. De ces constatations, nous sommes amené à penser à un rôle chronologiquement secondaire que pourrait jouer l'envahissement bactérien dans le processus de la pathogenèse. Par contre, la présence de signes cliniques accompagnés de lyses des hémocytes, font supposer un effet toxique de la bactérie, même lorsque les formes végétatives ne sont encore présentes qu'en nombre réduit.

L'ensemble de ces observations montre que le processus pathologique partant du parasitisme d'*E. kühniella* par l'Hyménoptère *N. canescens*, dont la tarière est contaminée par *B. thuringiensis*, et aboutissant à une mortalité importante dans la population de l'insecte-hôte présente plusieurs phases.

La première est physiologique et consiste en la réaction hémocytaire déclenchée par la destruction physique de l'hypoderme. La deuxième est celle de la constitution d'un foyer de bactéries par la multiplication de formes végétatives dans l'hémolymphe après l'introduction de spores par la tarière. La troisième est la multiplication très lente de ces bactéries et parallèlement une phase d'altérations cellulaires relativement de longue durée. Enfin, la dernière phase est celle de la septicémie devenant subitement rapide et provoquant la mort par sa généralisation, d'abord dans l'hémolymphe et ensuite dans différents tissus. Ainsi, le phénomène analysé apparaît comme un enchaînement d'un acte de parasitisme, d'un phénomène physiologique de blessure, d'une réaction hémocytaire, d'altérations tissulaires et cellulaires prolongées et d'une prolifération bactérienne septicémique.

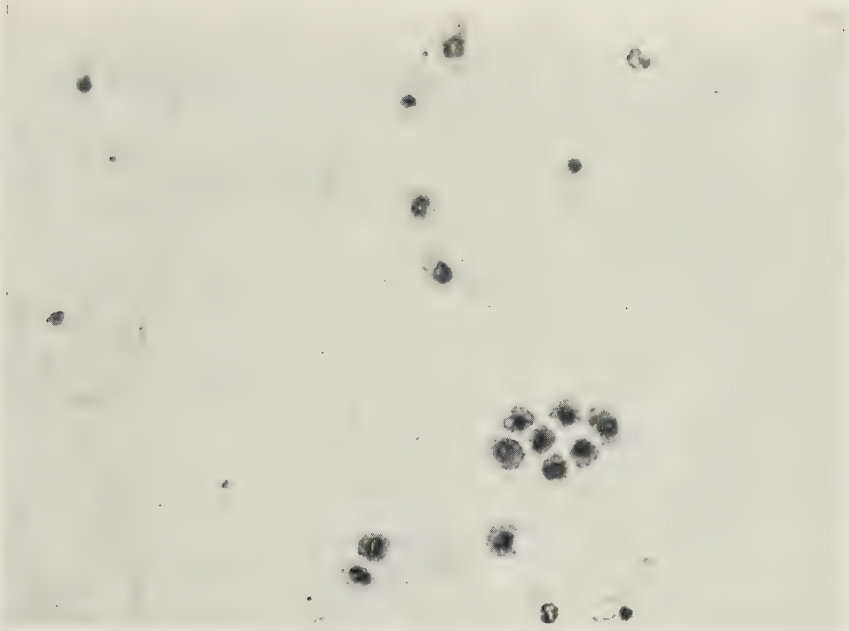


FIG. 32. — *Hémocytes normaux et début des altérations des hémocytes d'*E. kühniella *due à l'action de* B. thuringiensis *injecté par la tarière de* N. canescens
Coloration selon Pappenheim (× 360)

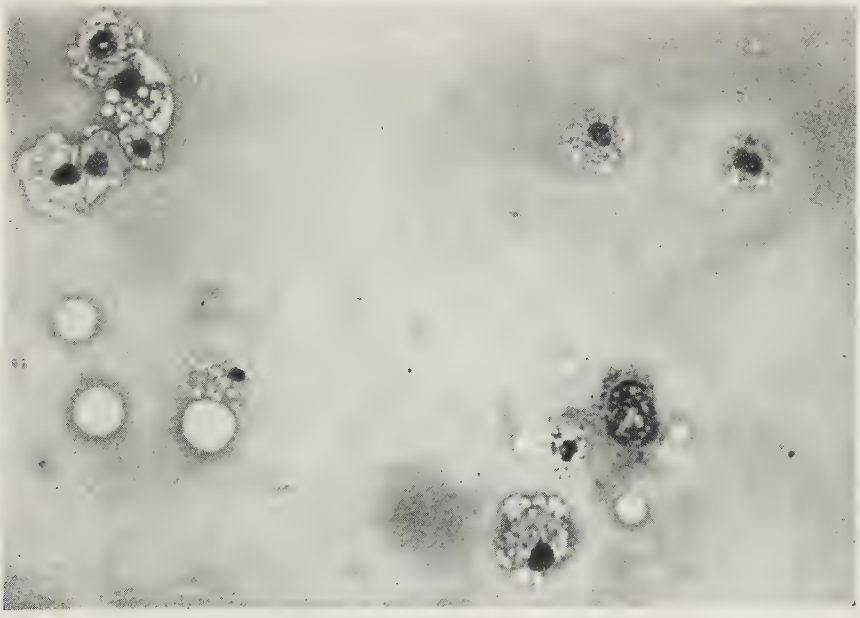
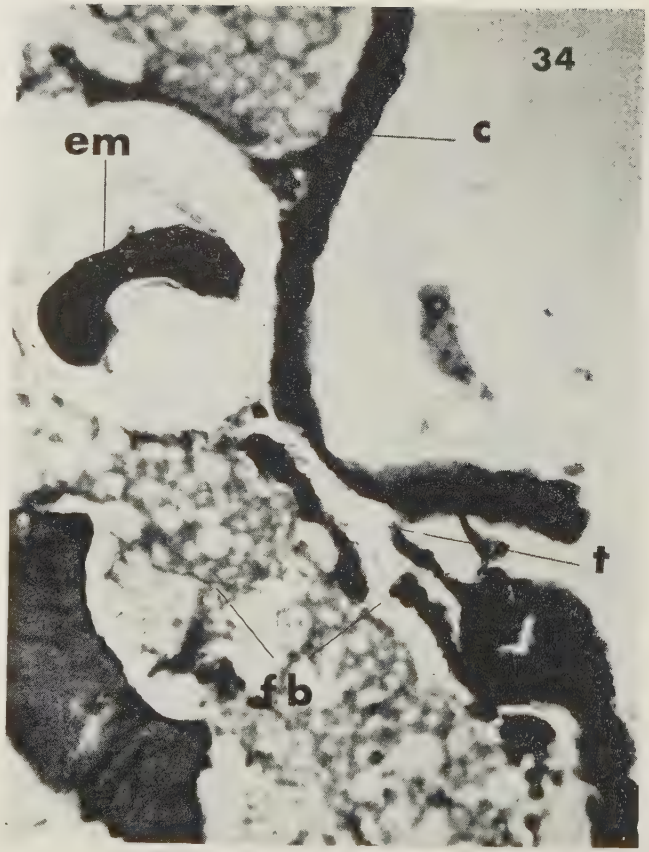


FIG. 33. — *Progression des altérations des hémocytes d'*E. kühniella *due à l'action de* B. thuringiensis *introduit par la tarière de* N. canescens.
Vacuolisation et désintégration du cytoplasme des hémocytes
Coloration selon Pappenheim (× 360)



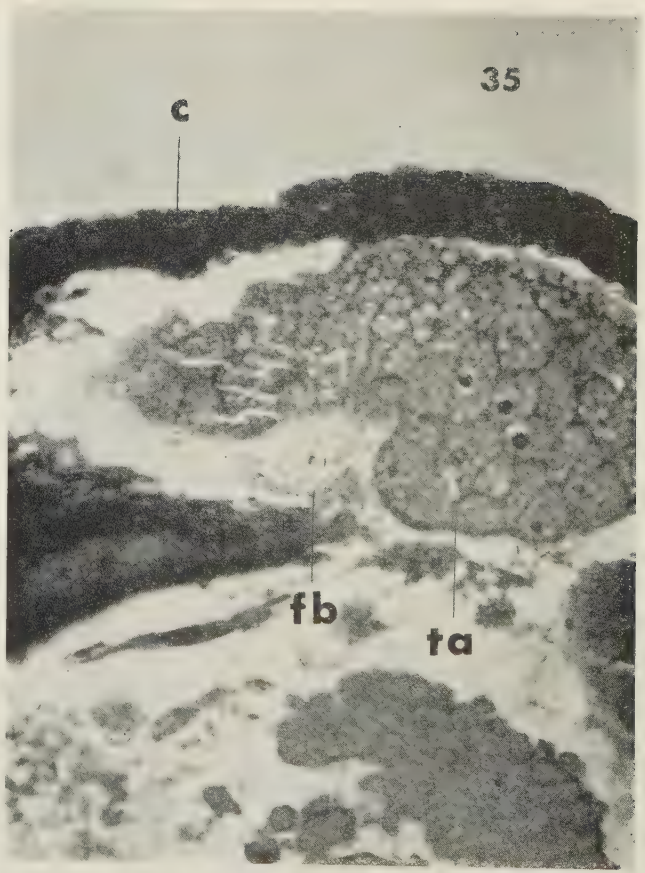
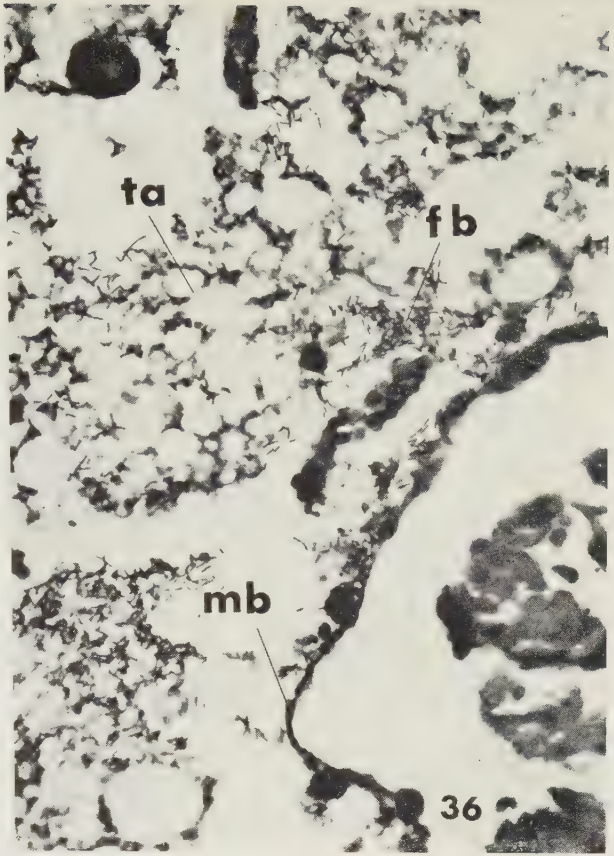


FIG. 34 et 35. — *Formations de foyers de bactéries de* B. thuringiensis *surtout à proximité du passage de la tarière du parasite* (34) *et dans d'autres parties de la cavité viscérale de l'hôte* (35) *lorsque les cellules sanguines sont détruites.*

Coloration selon Giemsa (× 400-34, × 360-35)

c : chitine, em : embryon de *N. canescens.*
fb : foyer de bactéries *B. thuringiensis.*
t : blessure due au passage de la tarière
ta : tissu adipeux.



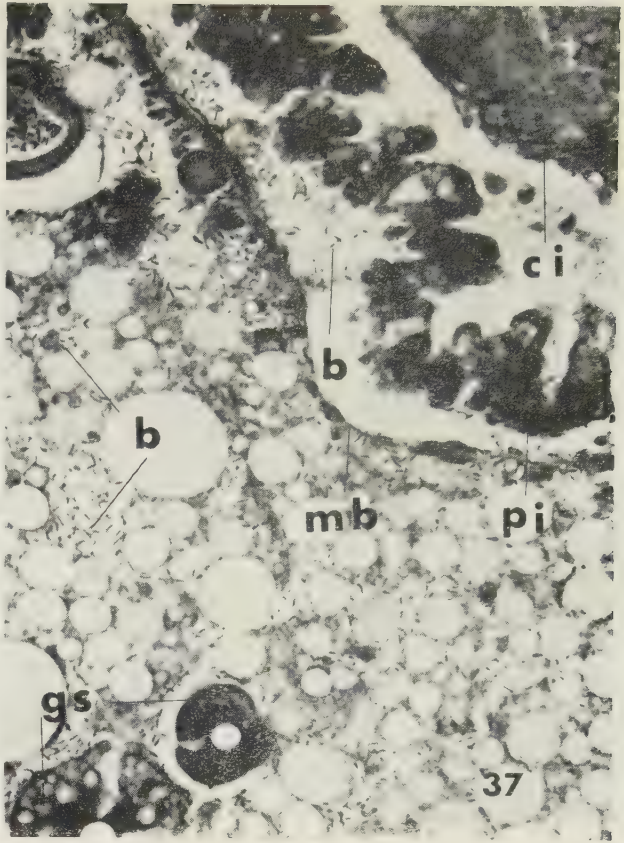


FIG. 36 et 37. — *Dernière étape de la pathogenèse à B.* thuringiensis *introduit dans la cavité viscérale d'*E. kuhniella *par la voie de N.* canescens. *Multiplication rapide de la bactérie et envahissement de toute la cavité viscérale, tissu adipeux, et pénétration dans l'intestin.*

Coloration selon Giemsa (× 360)

b : bactéries *B. thuringiensis*, ci : contenu intestinal,
fb : foyer de bactéries, gs : glandes séricigènes,
mb : membrane basale, pi : paroi intestinale,
ta : tissu adipeux.

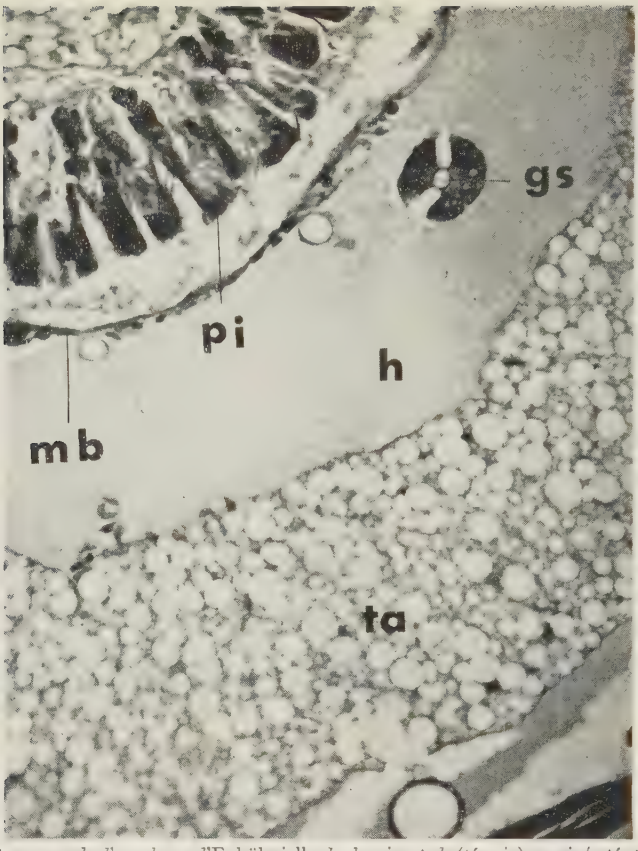
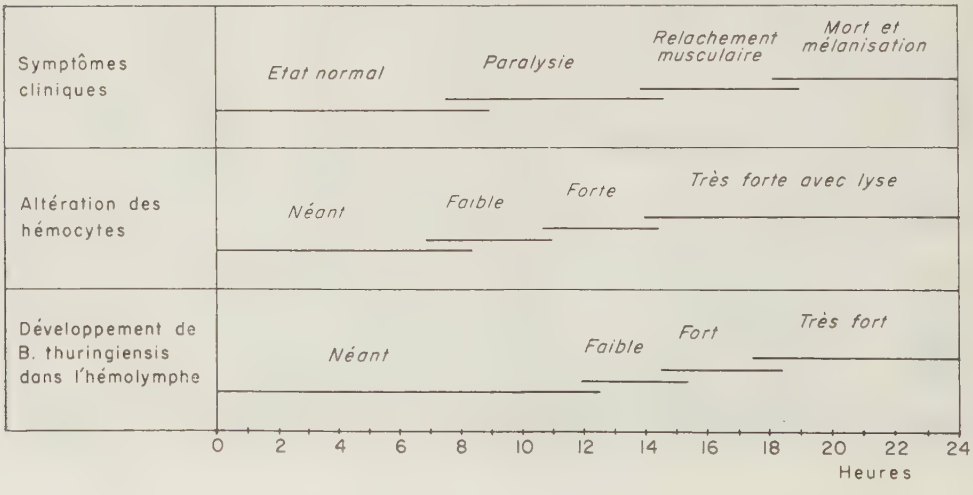


FIG. 38. — *Coupe transversale d'une larve d'*E. kühniella *du dernier stade (témoin) non infectée par* B. thuringiensis
Coloration selon Giemsa (× 360)

gs : glande séricigène, h : hémolymphe, mb : membrane basale, pi : paroi intestinale, ta : tissu adipeux.

TABLEAU II

*Pathogenèse d'*E. kühniella *infectée par* B. thuringiensis *au cours du parasitisme de* N. canescens



D'autre part, le phénomène analysé qui apparaît comme enchaînement de plusieurs processus pathologiques démontre que la réaction hémocytaire déclenchée par la blessure ne peut être efficace d'abord parce que les germes sont surtout introduits profondément dans la cavité générale, au-delà de la zone d'accumulation des hémocytes contre la blessure, ensuite parce que les altérations cellulaires dues à *B. thuringiensis* arrêtent la réaction. L'activité phagocytaire des micronucléocytes, faible au début de la pathogenèse, s'éteint très tôt pour la même raison.

B. — Le mode d'action de « B. thuringiensis » introduit par le parasite « N. canescens » dans l'hémolymphe d' « E. kühniella »

Après avoir étudié comparativement l'évolution des symptômes de la maladie qui suit l'introduction du germe par la ponte de *N. canescens* et le caractère des lésions des tissus, en particulier, des hémocytes au cours de la même période, nous avons entrepris d'étudier parallèlement le développement de *B. thuringiensis* dans l'hémolymphe d'*E. kühniella*.

a) *Matériel et méthodes.*

Pour cette étude furent pris en considération les deux derniers stades larvaires de l'hôte *E. kühniella* de préférence parasité par *N. canescens*. La méthode d'élevage de l'hôte et du parasite est présentée dans la première partie de ce travail.

L'étude de la pathogenèse de l'hôte ayant subi une injection intrahémocœlienne de *B. thuringiensis* était poursuivie à 23°C.

Les injections furent effectuées à l'aide d'un microinjecteur du type Braun avec aiguille de 4/10 mm.

L'inoculum pour chaque individu-hôte était de 0,01 ml d'une préparation bactérienne obtenue à partir d'une formulation sous forme de poudre étalon « E 61 » qui d'après la classification de de Barjac et Bonnefoi (1962) correspond au sérotype I de *Bacillus thuringiensis* berliner var. *thuringiensis*. Une anse de platine de cette poudre a été mise en culture dans du bouillon peptoné ordinaire de l'ordre de 15 ml.

Après 6 jours à 28°C, la culture a été centrifugée à 5600 *g* pendant 30 mm sur centrifugeuse Servall type SS 1A.

Le surnageant filtré à travers une membrane « millipore » à pores de 450 mμ de diamètre a été testé par la mise en culture sur gélose nutritive pour contrôler l'absence de germes.

Le culot, qui correspond à la fraction spores-cristaux, a été lavé plusieurs fois à l'eau distillée stérile, puis mis en suspension dans 10 cc d'eau physiologique stérile à 6 p. 1000.

La concentration approximative de cette suspension était d'environ 1×10^9 spores/cm³. Pour les besoins de nos expériences, nous avons procédé à des dilutions successives au 1/10 dans l'eau physiologique stérile. La dernière dilution utilisée, au 1/100 000 titrait approximativement 10^4 spores cm³. Le dénombrement des spores a été obtenu après mise en culture sur gélose nutritive en boîte de Pétri de chacune des suspensions à des dilutions convenables.

En prélevant avec une pipette compte-gouttes de Duclaux une goutte de milieu

soit 0,05 cm^3, dans l'une ou l'autre des 3 dernières dilutions (10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}) et en la mettant en suspension soit dans l'eau physiologique stérile, soit dans le surnageant filtré, nous avons obtenu selon un taux de dilution au 1/20, une gamme d'inoculum contenant environ 500, 50, 25 et 5 spores par 0,01 ml injecté.

Pour l'étude de la pathogenèse de l'infection furent utilisés les fixateurs de Carnoy et de Bouin. Les frottis hématologiques ont été colorés selon Pappenheim et les coupes histologiques par hémalun-éosine-orange pour l'étude topographique générale, par la méthode de Giemsa adaptée aux coupes et par la méthode à la brésiléine (Calmette et *al.*, 1948) pour la mise en évidence de corps bactériens.

Le pH de l'hémolymphe de chenilles d'*E. kühniella* fut mesuré à l'aide d'une électrode de verre à coupelle Methrom AG., type E 196 S et d'un pH-mètre de la même origine.

b) *Action d'une oligoinfection expérimentale de l'hémolymphe.*

Dans le but de reproduire le mécanisme de la contamination qui suit l'introduction de la tarière infectée de *N. canescens*, nous avons injecté des quantités décroissantes de *B. thuringiensis* dans la cavité générale d'*E. kühniella* en utilisant les taux de dilution précédemment cités.

Nous avons retrouvé au cours de ces infections expérimentales les différentes phases de la pathogenèse aussi bien en ce qui concerne les symptômes que l'altération des cellules et le développement bactérien.

Ainsi, nous retrouvons, en particulier pour la gamme d'injections expérimentales au plus fort taux de dilutions (de 50 à 25 spores environ, fig. 39) les symptômes de paralysie, d'altérations cellulaires, et enfin le développement bactérien semblable à la pathogenèse due à l'infection naturelle d'*E. kühniella* par la tarière du parasite *N. canescens*. Dans ces cas, il est à remarquer que c'est surtout l'injection de 50 et 25 corps bactériens environ qui reproduit des phénomènes d'une façon proche à ceux résultant de l'infection naturelle, et ceci également en fonction des temps d'évolution de la pathogenèse se terminant par une mortalité, dont toute la population est atteinte. L'ensemble de ces caractéristiques montrent un mécanisme semblable à celui observé au cours de l'infection par le parasitisme de *N. canescens*.

Nous avons pu préciser effectivement le taux de bactéries correspondant à celui du cas naturel, comme ceci présente la figure 39 montrant les temps d'évolution de mortalité en fonction du nombre de bactéries injectées ; la durée d'évolution de mortalité due à l'infection naturelle correspond à celle consécutive à l'injection d'environ 25 bactéries. De plus le décalage entre l'altération des hémocytes, le développement bactérien a pu être reproduit d'une façon expérimentale.

c) *Action de l'oligoinfection combinée avec le surnageant de culture de* B. thuringiensis.

Quoique dans le chapitre suivant, nous rapportons les principales données obtenues jusqu'à présent par différents chercheurs et concernant *B. thuringiensis* nous faisons brièvement état de travaux de Mac Connell et Richards (1959) et Burgerjon et de Barjac (1960, 1962) à qui on doit la mise en évidence et les premières investigations sur la toxine soluble thermostable contenue dans le surnageant de culture de *B. thuringiensis*.

Toumanoff et Vago (1953) d'une part, et Vankova (1957) d'autre part, ont obtenu des effets toxémiques seulement avec des suspensions ne contenant que des formes végétatives de certaines souches de *B. thuringiensis* et ont montré l'action d'une lécithinase.

Burgerjon et de Barjac (1962) observaient le pouvoir insecticide de cette toxine thermostable de la souche *B. thuringiensis* berliner administrée par libre ingestion aux différentes espèces de Lépidoptères. En comparant ce pouvoir insecticide à celui du complexe spores-cristaux, ces auteurs remarquaient notamment

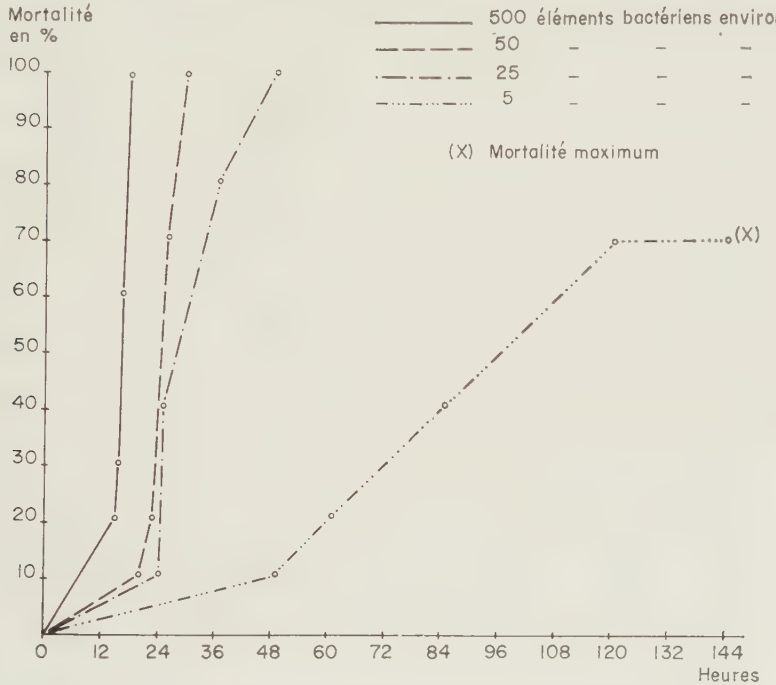


Fig. 39. — *Comparaison des effets de différents nombres d'éléments bactériens de* B. thuringiensis *vis-à-vis d'*E. kühniella

que « par rapport à ce dernier (spores-cristaux) l'action insecticide de la toxine soluble thermostable est lente et nécessite de plus fortes doses de surnageant vis-à-vis des insectes sensibles aux spores-cristaux. Elle est plus toxique que la fraction spores-cristaux vis-à-vis des chenilles résistantes à cette dernière, même vis-à-vis d'insectes d'autres ordres comme les larves de *Leptinotarsa decemlineata*. »

D'après Mac Connell et Richards (1959) le surnageant de culture de *Bacillus thuringiensis* variété *thuringiensis* contient la toxine thermostable qui est due certainement aux formes végétatives de la bactérie, étant donné que, d'après ces auteurs, elle est produite entre la 8e heure et la 24e heure qui suivent la mise en culture de la bactérie en étuve à 30°C, c'est-à-dire avant la sporulation, donc également avant la formation de cristaux.

Des symptômes cliniques d'effets toxémiques de toxines contenues dans le surnageant de culture de *B. thuringiensis* chez certains Lépidoptères ont été observés par les auteurs cités et également par Yamvrias (1962).

Dans les expériences qui suivent, nous nous proposons d'examiner le mécanisme d'action de la bactérie et de son surnageant injecté dans le sang d'*E. kühniella*.

L'expérience précédente ayant confirmé l'observation d'altérations cellulaires avant la multiplication massive des bactéries, nous avons reproduit, au cours d'une deuxième série d'expériences, le phénomène décrit ci-dessus en adjoignant aux bactéries injectées le surnageant de culture.

Le surnageant a été obtenu selon la technique décrite précédemment. En utilisant les taux de dilutions exposés plus haut, le surnageant filtré a été réajusté aux taux de nombre décroissant de spores (500, 50, 25 et 5 environ) par 0,01 millilitre. Cette dernière quantité a été injectée dans chaque larve.

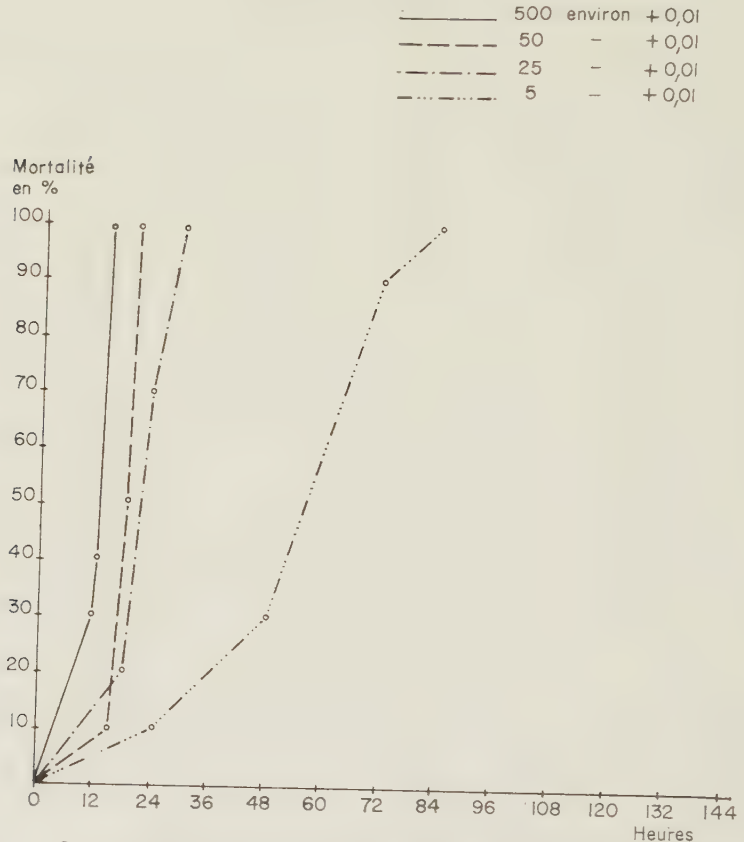


FIG. 40. — *Comparaison des effets de différents nombres d'éléments bactériens de* B. thuringiensis *accompagnés de 0,01 ml de surnageant non stérilisé de culture de* B. thuringiensis BERLINER *vis-à-vis d'*E. kühniella

La fig. 40 montre l'évolution de la mortalité survenue après l'injection de différentes quantités de bactéries accompagnées toujours de la même quantité de surnageant de culture de *B. thuringiensis*.

Si l'on compare ces courbes avec celles de la fig. 39 où seuls les éléments bactériens étaient injectés, on remarque que la mortalité est plus rapide pour un même nombre de bactéries donné. En particulier lors des infections très faibles où la morta-

lité due aux bactéries seules est restée partielle (fig. 39) avec l'addition du surnageant elle est étendue sur l'ensemble de la population (fig. 40). Le déroulement du processus de la pathogenèse était tout à fait semblable à celui observé après injection de bactéries seules. Toutefois, la paralysie a évolué plus rapidement.

Les signes histologiques, cytologiques et hématologiques étaient aussi comparables à ceux observés après l'action du parasite. Mais la vacuolisation des hémocytes est plus précoce et plus intense par rapport au début de multiplication des bactéries. Les phénomènes sont particulièrement prononcés au cours des oligoinfections à nombre restreint d'éléments bactériens où la multiplications des bactéries dans la cavité générale ne suit que assez tardivement les signes internes et hématologiques de l'intoxication.

d) *Action du surnageant seul de culture de* B. thuringiensis

1° *Surnageant non stérilisé.*

Dans le but de mieux connaître l'effet accélérateur d'altérations cellulaires et de la paralysie par le surnageant non stérilisé (la méthode d'obtention fut décrite précédemment) de la culture bactérienne, nous avons envisagé d'examiner l'action du surnageant seul. 0,01 ml de cette solution exempte de tout germe vivant a été injecté dans la cavité générale de chacune des 50 larves d'*E. kühniella* des deux derniers stades. Les témoins ont reçu la même quantité de surnageant filtré de bouillon non ensemencé.

Au bout de 3-4 heures, les mouvements des larves se ralentissent et progressivement une paralysie prononcée s'installe. Ces larves se maintiennent ensuite dans l'état de léthargie et de paralysie, pendant 10 à 15 jours sans changements notables, restant à l'état larvaire, tandis que les témoins injectés de bouillon non ensemencé se sont déjà nymphosés et même ont donnés des adultes sains. Il est à noter cependant que les larves traitées ont diminué de volume et se sont recourbées de plus en plus (fig. 41 *b*). Ce changement extérieur est probablement dû à l'effet du jeûne qui a suivi l'intoxication car les larves ayant reçu le surnageant de culture de *B. thuringiensis* ne se sont jamais plus alimentées.

Des larves saines du même âge n'ayant pas la possibilité d'alimentation diminuent de peu leur volume et se nymphosent en donnant des imagos d'une façon anticipée par rapport à celles qui peuvent prendre de la nourriture..

Indiquons toutefois que Jones et Tauber (1954) observent que les poisons peuvent réduire le volume du sang, donc la taille de l'individu, un effet qui se produit également durant le jeûne prolongé (Rosenberger et Jones, 1960).

Après l'injection du surnageant, on remarque que les symptômes cliniques de la maladie sont semblables à ceux observés au cours du parasitisme naturel, toutefois la dernière phase de la pathogenèse, la mortalité des larves avec septicémie n'a pas eu lieu.

A l'examen cytologique, on constate pendant cette même période que quelques heures après l'injection, les cellules sanguines micronucléocytes et macronucléocytes se remplissent de vacuoles. Ces dernières prennent en 8 heures un volume si important que le cytoplasme se désagrège et disparaît progressivement (fig. 42). Dans les larves-témoins injectées du filtrat de bouillon non ensemencé, les hémocytes ne subissent aucun changement.

FIG. 41. — a) *Aspect de larves témoins d'*E. kühniella *trois jours après l'injection dans leur cavité viscérale de* 0,01 *ml de filtrat de bouillon non ensemencé de* B. thuringiensis. *Par la suite donnent normalement des imagos sains.*
b) *Aspect de larves d'*E. kühniella *cinq jours après l'injection dans la cavité viscérale de* **00,1** *ml de surnageant non stérilisé de culture de* B. thuringiensis BERLINER. *Par la suite les larves meurent.*

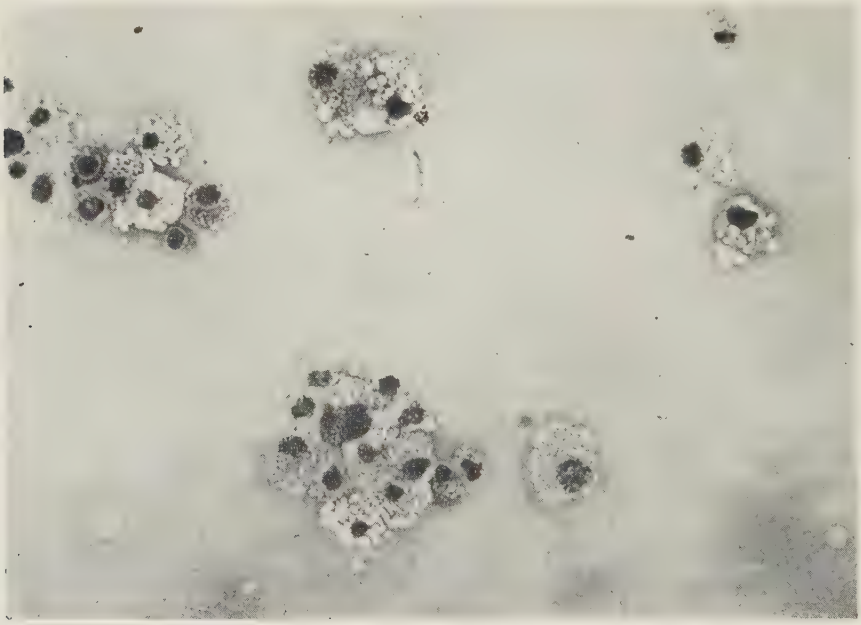


FIG. 42. — *Altération des hémocytes* d'E. kühniella. *Vacuolisation et désintégration du cytoplasme de cellulles sanguines dues à l'action du surnageant non stérilisé de* B. thuringiensis BERLINER *injecté dans la cavité viscérale à raison des* **0,01** *ml par individu.*
L'état des hémocytes huit heures après l'injection. Coloration selon Pappenheim (× 360)

S'inspirant des résultats déjà cités de Mac Connell et Richards (1959) et concernant la production de la toxine soluble thermostable par les formes végétatives de *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* entre la 8e et 24e heure à 30°C, et avant la sporulation de la bactérie, nous avons suivi également les conséquences pathologiques chez les larves d'*E. kühniella* ayant reçu la même dose de 0,01 ml de surnageant non stérilisé d'une culture de *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* de 18 heures à 28°C et ne contenant que des formes végétatives.

Ce surnageant exempt de germes vivants (technique décrite auparavant) injecté dans la cavité viscérale de l'hôte mentionné reproduit les mêmes symptômes cliniques et cytologiques que le surnagenat de la culture de six jours du germe en question, symptômes que nous venons de présenter.

Ces expériences montrent qu'il est possible de provoquer par injection de surnageant de culture de *B. thuringiensis* la paralysie et les altérations hémocytaires semblables à celles qui caractérisent la première phase de l'infection de l'hémolymphe par la bactérie elle-même introduite dans la cavité générale de l'hôte au cours du parasitisme de *N. canescens* ou expérimentalement.

La paralysie décrite, les altérations hémocytaires étant comparables à celles qui précèdent l'évolution de la septicémie à partir d'un nombre réduit de bactéries dans l'infection naturelle par l'entomophage, alors nous pouvons penser que cette infection de l'hôte par la tarière de *N. canescens* contaminée par *B. thuringiensis* est composée d'abord d'une phase d'intoxication due à la sécrétion des toxines par la bactérie au cours de son développement faible dans l'hémolymphe et d'une deuxième phase qui survient au moment où les hémocytes et l'hémolymphe sont déjà altérés. C'est ainsi qu'un développement rapide de bactéries serait possible. Ce fort développement bactérien survient progressivement au fur et à mesure de l'altération prononcée des hémocytes et de l'hémolymphe. L'hôte meurt d'une septicémie généralisée chronologiquement secondaire.

2° *Surnageant stérilisé* (toxine soluble thermostable).

Tenant compte des travaux précédents et concernant l'action d'une toxine émise par *Bacillus thuringiensis* berliner (toxine soluble thermostable, Mac Connell et Richards, 1959 ; Burgerjon et de Barjac, 1960) et de l'action du surnageant non stérilisé du germe en question venant d'être décrite il importait de procéder à la comparaison de leurs effets dans l'hémolymphe d'*E. kühniella*.

La toxine soluble thermostable présente dans le surnageant stérilisé à 120°C durant 15 minutes, d'une culture de *Bacillus thuringiensis* berliner var. *thuringiensis* provenait de l'Institut Pasteur de Paris et exempt de germes vivants a été injectée à raison de 0,01 ml dans la cavité viscérale de chacune des 50 larves d'*E. kühniella*. Les mêmes conditions de travail furent respectées comme pour les injections précédentes.

Les symptômes cliniques survenant après l'injection de la toxine soluble thermostable nous paraissent être semblables à ceux observés après l'injection du surnageant non stérilisé de la culture de *Bacillus thuringiensis* berliner décrite précédemment.

Les examens hématologiques ne semblent pas indiquer tout à fait les mêmes effets cytopathologiques dus à l'action des inoculums (surnageant non stérilisé et surnageant

stérilisé de *Bacillus thruringiensis* BERLINER). Comme nous l'avons indiqué dans le cas d'injection du surgageant non stérilisé, on assiste aux phénomènes de vacuolisation et désintégration progressive du cytoplasme des cellules sanguines d'*E. kühniella*, effets très avancés déjà en 8 heures après l'inoculation.

Après l'injection du surnageant stérilisé contenant la toxine soluble thermostable des cas de vacuolisation du cytoplasme des hémocytes sont constatés, mais moins fréquemment, de moindre importance, moins prononcés et rarement avant 8 heures Employant les termes de JONES et TAUBER (1954) concernant les hémocytes anormaux chez les insectes, après l'injection du surnageant stérilisé à toxine soluble thermostable de *B. thuringiensis*, nous observons dans certains cas, avant 24 heures, la rupture de noyaux et expulsion du matériel nucléaire, phénomène qui paraît s'intensifier légèrement dans le temps. Quelques cas de formation de cellules gigantesques (hypertrophie) sont constatés. Ainsi, le procédé de comparaison des effets cytopathologiques pouvant intervenir après l'injection d'une part du surnageant non stérilisé et d'autre part du surnageant stérilisé de *B. thuringiensis*, dans la cavité viscérale d'*E. kühniella* nous amène à constater dans les deux cas l'effet toxémique des inoculum, cependant les altérations cellulaires ne paraissent pas être tout à fait semblables.

Les mesures du pH du sang de chenilles d'*E. kühniella* durant l'action de *B. thuringiensis* ne révèlent pas de modifications notables. Celui-ci étant normalement légèrement acide (pH 6,5) devient neutre et rarement faiblement alcalin, quelques heures après l'injection du germe dans la cavité viscérale. L'observation ne rejoint qu'en partie celles de HEIMPEL et ANGUS (1959) et de DRILHON et VAGO (1960) qui indiquent que le sang normalement légèrement acide chez les insectes expérimentés (*Bombyx mori*, *Phlegethontius quinquemaculatus*, *Antheraea pernyi*) devient alcalin dans les heures qui suivent l'ingestion de *B. thuringiensis*. Notons que chez de nombreuses chenilles, en général le pH du tube digestif est alcalin et dans le cas d'expériences des auteurs cités, le germe était initialement situé dans le milieu où l'action des cristaux toxiques influence favorablement sa pathogénéité (MARTOURET, 1960, 1961 ; GRISON, 1961 ; LHOSTE, MARTOURET et ROCHE, 1964) et non directement dans l'hémolymphe comme fut le cas de notre étude.

4. Effets de l'insertion de l'œuf de *Nemeritis canescens* Grav. dans la cavité viscérale d'*Ephestia kühniella* Zell. par la tarière non contaminée par *Bacillus thuringiensis* Berl. sur l'état des hémocytes de l'hôte

Afin d'observer une éventuelle répercussion de la piqûre parasitaire faite par la tarière non contaminée de *N. canescens* sur l'état des cellules sanguines d'*E. kühniella*, nous avons examiné l'hémolymphe à l'aide de méthodes hématologiques déjà décrites, toutes les deux heures du moment du parasitisme jusqu'à 24 heures.

En effet, des changements de forme et de la structure des hémocytes peuvent être notamment le résultat de réactions de défense devant des corps étrangers non infectieux ou infectieux. D'autre part, on pourrait supposer que les sécrétions des glandes annexes du système reproducteur de l'Hyménoptère accompagnant l'œuf pourrait avoir certains effets une fois déposées dans la cavité générale de l'hôte.

D'après nos observations sur des larves d'*E. kühniella* parasitées par *N. canescens* parmi les cinq types de réactions de défense de l'hôte vis-à-vis des endoparasites (Wittig, 1962) :

1° pas de réaction de défense du tout. Le parasite reste pour la plupart du temps, libre dans la cavité générale de l'hôte et se développe avec succès. Le parasite est parfaitement adapté à son hôte ;

2° pas de réactions hémocytaires, mais le parasite est ralenti dans son développement, ou ne se développe pas, ou il est tué. Les effets indiqueraient soit une influence humorale sur le parasite, soit l'inutilité du milieu environnant ;

3° réactions de défense seulement envers un parasite affaibli ou mort. Les phagocytes agissent plus ou moins comme des agents de purification ;

4° réactions de défense de l'hôte restreinte à une courte période de vie dans le cycle total de développement du parasite ;

5° réactions de défense envers le parasite vivant qui résulte souvent en sa mort. Deux sortes de ces réactions peuvent être distinguées : une réaction hémocytaire et le dépôt de mélanine.

Nous pensons retenir particulièrement la première (observations concernant les premières 24 heures et pour un parasite en développement).

Nos observations concernaient surtout l'état des hémocytes et les éventuelles réactions hémocytaires vis-à-vis de l'œuf ou de l'embryon en voie de développement dans les premières 24 heures, temps où la pathogenèse à *B. thuringiensis* d'*E. kühniella* s'achève par la mort de l'hôte.

Nous penchons vers le premier des cinq types de réactions de défense de Wittig parce que, durant la période indiquée, après le dépôt de l'œuf nous ne constatons aucun changement de l'état normal des hémocytes de l'hôte, ni de regroupement spécial des hémocytes autour de l'embryon en voie de développement. Certains auteurs notamment Salt (1955, 1957, 1959) et Schneider (1950) pour d'autres endoparasites observent une telle accumulation hémocytaire de préférence autour du micropyle de l'œuf déposé. Également Biliotti et Vago (1961) indiquent un regroupement d'hémocytes à proximité d'un parasite Tachinide dans un Lépidoptère.

Dans le cas d'absence de réactions visibles de défense de l'hôte envers le parasite, il est possible que ce dernier soit chimiotactiquement neutre aux phagocytes de l'hôte comme l'ont indiqué Thompson (1930) et Muldrew (1953) pour d'autres endoparasites, ou il sécrèterait des substances inhibitrices (Salt 1956). Dans ces conditions, l'endoparasite se développe avec succès, ce qui est le cas de *N. canescens* se développant aux dépens d'*E. kühniella*.

Une part importante dans la défense de l'insecte contre les infections est attribuée aux hémocytes, ceci est surtout visible autour des blessures où les cellules sanguines peuvent s'accumuler en grand nombre et s'aplatissant forment une sorte de « pseudoeptihélium » (Ries, 1932 ; Rooseboom, 1937 ; Ermin, 1939 ; Beard, 1950 ; Grégoire et Florkin, 1950 ; Grégoire, 1951-1959 ; Vago, 1956 ; Jones, 1962). Dans ces conditions, l'examen de l'hémolymphe d'*E. kühniella* après le parasitisme de *N. canescens* sans intervention de *B. thuringiensis* était nécessaire pour mieux mettre en relief les altérations cellulaires d'*E. kühniella* survenant après le parasitisme par *N. canescens* ayant la tarière contaminée par la bactérie en question.

5. Conclusions

Les recherches expérimentales concernant l'étude du complexe blessure-infection bactérienne à *B. thuringiensis* chez *E. kühniella* due au parasitisme de *N. canescens* dégagent de leur ensemble l'importance présentée par cet entomophage durant son parasitisme dans la transmission de germes. Les constatations faites peuvent attribuer à *N. canescens* un rôle important dans le déclenchement d'une épizootie à *B. thuringiensis* dans une population d'*E. kühniella* d'un biotope donné.

Le rôle du nombre de blessures de l'hôte effectué par l'entomophage déposant ses œufs et s'adonnant au superparasitisme a été étudié à l'aide de blessures artificielles et naturelles. Il s'avère que, l'augmentation du nombre de piqûres de la tarière contaminée de *N. canescens* ou de piqûres artificielles, se solde par l'accroissement de mortalité de l'hôte *E. kühniella*. Il en est de même pour l'augmentation de la dose de la préparation bactérienne de *B. thuringiensis*.

Les lésions épidermales provoquées par la tarière de *N. canescens* chez *E. kühniella* servent de voies de pénétration de la bactérie si l'hôte évolue dans un milieu contaminé. D'un autre côté, il y a introduction et infection directe de l'hôte par les germes transportés par la tarière.

L'étude de la pathogenèse de cette infection par voie histologique et hématologique, nous a permis de faire une distinction entre l'intoxication classique à *B. thuringiensis* d'*E. kühniella* par voie buccale décrite notamment par Yamvrias (1962) et l'infection de l'hémolymphe de l'hôte par les lésions épidermiques dues au parasitisme de *N. canescens*.

Cette infection survenant après une blessure a révélé une vacuolisation de plus en plus intense des macro- et micronucléocytes, symptôme inhabituel au cours des réactions hémocytaires après traumatisme. Le cytoplasme des hémocytes de l'hémolymphe infecté présente de profondes altérations et désintégrations. Ces symptômes ne sont pas parallèles au développement de formes végétatives des bactéries introduites. Les examens histologiques et du sang montrent que le développement septicémique survient lorsque les altérations cellulaires sont très profondes. Le rôle du surnageant non stérilisé de culture de *B. thuringiensis* et en partie de la toxine soluble thermostable dans la pathogenèse à *B. thuringiensis* chez *E. kühniella* fut démontré.

L'injection dans l'hémolymphe du surnageant non stérilisé du germe en question a révélé les phénomènes d'altérations cellulaires semblables à ceux observés avant la manifestation septicémique résultant de l'introduction de la bactérie dans la cavité générale de l'hôte par le parasitisme de *N. canescens* ou expérimentalement.

D'autre part, les altérations hémocytaires sont plus précoces et plus intenses lorsqu'aux nombres de bactéries injectées dans la cavité générale de l'hôte fut additionné le surnageant du germe en question. Dans ces cas, la mortalité étant également plus rapide, nous pensons que le surnageant de culture de *B. thuringiensis* est effectivement en partie responsable des manifestations pathologiques constatées.

B. thuringiensis introduit dans la cavité viscérale d'*E. kühniella* par la tarière souillée du parasite *N. canescens* possède donc une action toxémique primaire caractérisée par plusieurs manifestations pathologiques s'achevant par la paralysie de l'hôte, puis une action septicémique chronologiquement secondaire lors de la multiplication bactérienne dans l'hémolymphe entraînant la mort rapide de l'hôte.

La réaction hémocytaire déclenchée par la blessure ainsi que la faible activité phagocytaire des micronucléocytes s'éteignent pour les raisons d'altérations cellulaires évoquées et dues à *B. thuringiensis*.

Ainsi, les phénomènes pathologiques analysés après l'introduction du germe par la tarière contaminée de *N. canescens* dans la cavité viscérale de l'hôte nous ont révélé un enchaînement de plusieurs processus pathologiques amenant la mortalité de l'hôte et l'introduction de la tarière du parasite est donc un mode de contamination efficace.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les recherches antérieures dans le domaine de la lutte biologique, dont la bibliographie exhaustive ne peut être présentée ici, ont traité surtout des problèmes d'utilisation séparée d'insectes entomophages ou de micro-organismes entomopathogènes, et sommairement encore de l'association de ces deux catégories de facteurs biotiques, ou encore de l'association de facteurs biotiques aux produits chimiques.

L'intérêt porté par les spécialistes à la lutte intégrée dans laquelle plusieurs agents biotiques, insectes entomophages et germes entomopathogènes, pourraient être associés aux autres facteurs de limitation ou de destruction des populations d'insectes ravageurs nous a incité à entreprendre des recherches ayant pour but une « meilleure interprétation possible du complexe parasite-hôte basée sur la diversité des processus infectieux » (GRISON, 1961). En effet, après constatation en 1962 d'une épizootie naturelle à *B. thuringiensis* chez *Ephestia kühniella* ZELL. (Pyralidae) en présence de l'entomophage *Nemeritis canescens* GRAV. (Ichneumonidae) il était indispensable de connaître quelles sont les relations entre l'hôte et ces deux types parasitaires microbien et entomophage. Ceci d'autant plus que jusqu'à présent la question de participation d'un parasite entomophage dans le déclenchement d'une épizootie bactérienne chez une population-hôte, n'a pas été suffisamment abordée.

L'attention des pathologistes a été surtout retenue par les infections mixtes produites par des germes différents. Ce sujet a été analysé notamment par VAGO (1956 et 1963).

Dans le cas de parasitisme simultané d'*E. kühniella* par la bactérie *B. thuringiensis* et par l'entomophage *N. canescens* nous avons à tenir compte d'un enchaînement de processus pathologique de nature différente. En effet, comme nous l'avons démontré, l'entomophage déposant l'œuf provoque des blessures dans l'épiderme de son hôte. Alors, les traumatismes même s'ils ne se présentent pas sous forme de blessures ouvertes sont des points de moindre résistance aux infections cryptogamiques, virales ou bactériennes.

L'observation d'une épizootie bactérienne naturelle due à *B. thuringiensis* chez *E. kühniella* en présence dans le biotope donné d'une importante population de parasites entomophages, le *N. canescens* de l'hôte en question, nous a conduit à émettre l'hypothèse d'une relation entre l'épizootie et l'entomophage. Les relations hôte-parasite-microbe on été étudiées, mais « les études épizootiologiques devraient tenir compte non seulement de la population en question mais de l'écologie et de la pathologie des autres insectes présents dans le biotope ou susceptibles d'y accéder » (VAGO, 1962). C'est ainsi que l'ensemble de nos recherches consistait à connaître l'écologie, la biologie de l'hôte *E. kühniella*, de son parasite *N. canescens* avant l'éclaircissement de la question d'intervention de la bactérie *B. thuringiensis* dans ce complexe parasitaire.

Dans la première partie de notre étude, nous avons cherché à établir comment a lieu à la fin du développement larvaire d'*E. kühniella* l'action parasitaire de *N. canescens* de préférence sur les deux derniers stades. Néanmoins, l'entomophage peut parfois parasiter les stades antérieurs : le sixième, mais rarement le cinquième. D'autre part, les chrysalides en voie de formation, chez lesquelles la chitine permet l'introduction de la tarière et le dépôt de l'œuf, peuvent être également parasitées.

Les expériences ont été toujours conduites à une température de + 25°C et à une humidité relative de 60-80 p. 100 tant en ce qui concerne les études biologiques qu'en ce qui concerne les recherches pathologiques, pour lesquelles étaient triés les deux derniers stades larvaires d'*E. kühniella* parasités sans restriction par l'entomophage.

Le comportement de ponte du parasite est fixé, dès l'émergence, et en général, ne subit pas de modifications importantes durant sa vie, dans des conditions environnantes stables. La fréquence d'actes de parasitisme n'est pas la même pour différentes températures et si le *N. canescens* déborde d'activité à 25°C, par contre, à 15°C, la ponte ne se produit qu'à de rares intervalles. Après avoir été spatialement détecté et localisé l'hôte subit l'insertion de la tarière du parasite au moment du dépôt de l'œuf ce qui provoque une blessure tégumentaire. Celle-ci peut avoir des conséquences graves et parfois mortelles dans le cas de superparasitisme fréquent chez cet entomophage qui ne possède pas de pouvoir de discrimination vis-à-vis d'un hôte parasité ou non. Toutefois, une sorte de discrimination imparfaite peut exister, elle est alors de courte durée ; ce délai durant lequel le parasite est susceptible de discrimination fut appelé par Simmonds (1943) « immunité temporaire conférée à l'hôte par la ponte du parasite ».

L'existence du superparasitisme chez *N. canescens* et le dépôt des œufs (piqûres), plutôt par hasard, dans toute la partie du corps de l'hôte, sans choix marqué, semble être en relation d'une part avec le chimiotropisme de la soie sécrétée par *E. kühniella*, et d'autre part avec la pression ovarienne. Cette dernière peut amener le parasite à se livrer à plusieurs assauts sur un même hôte et à provoquer ainsi plusieurs blessures, dont le rôle peut être important dans les déclenchement d'infections bactériennes chez *E. kühniella*.

Au cours des observations biologiques fut étudiée une maladie physiologique de larves de *N. canescens* due à la rétention de la soie dans leurs glandes séricigènes. Cette maladie entrave le processus de la métamorphose et entraîne la mort de l'entomophage ce qui n'avait été approfondi que chez les Lépidoptères.

Nous avons alors abordé les problèmes pathologiques de relations physiologiques et éthologiques entre l'infection à *B. thuringiensis* et le parasitisme par *N. canescens* chez *E. kühniella*.

Les causes de l'épizootie naturelle à *B. thuringiensis* chez *E. kühniella* observées dans un biotope naturel et en présence d'une importante population de *N. canescens* furent recherchées et mises en évidence par expérience au laboratoire.

Rappelons d'abord que le processus d'intoxication *per* oral décrit par Yamvrias est différent de celui que nous avons analysé et que dans les deux cas on assiste à des manifestations pathologiques différentes.

Il s'avère que les bactéries peuvent être transportées par les soins de l'Hyménoptère parasite, surtout à l'aide de la tarière. Celle-ci contaminée et introduite dans la cavité viscérale de l'hôte infecte l'hémolymphe. Cette infection bactérienne peut

amener la mort de l'hôte dans un délai de 24 heures dans la plupart des cas. Elle est liée à la fois à la densité de population de l'hôte, à celle du parasite entomophage, et à l'importance de la contamination du milieu par la bactérie, c'est-à-dire à la concentration en germes contenus dans la farine.

La présence du superparasitisme dans le comportement de ponte de *N. canescens* augmente le nombre de blessures parasitaires dans le corps de l'hôte, et en même temps accroît les possibilités d'introduction du germe et les risques d'infection. Par exemple, de 33 p. 100 pour l'intervention d'un seul *N. canescens*, la mortalité de l'hôte passe à 69 p. 100 et 96 p. 100 s'il y a respectivement 5 et 10 entomophages, pour un milieu expérimental de farine contaminé à raison de 1 p. 100 de E 61. L'augmentation de la dose de *B. thuringiensis* amène également des mortalités plus importantes. Des effets analogues sont obtenus par un nombre croissant de piqûres artificielles expérimentales : pour une dose de 5 p. 100 de E 61 la mortalité de chenilles ayant subi une blessure est de 30 p. 100 tandis qu'elles atteint 90 p. 100 dans le cas de cinq blessures.

Il fut établi que, même sans introduction directe du germe dans la cavité générale par l'insertion de la tarière déposant l'œuf, les blessures provoquant une rupture traumatique de l'épiderme, facilitent les chances d'infection par la bactérie avant leur cicatrisation. Ainsi, dans le cas de la présence simultanée du microbe *B. thuringiensis* et de l'insecte entomophage *N. canescens* dans le milieu nutritif de l'hôte *E. kühniella*, on constate une augmentation de la mortalité de l'hôte d'origine microbienne due à l'infection de l'hémolymphe par l'action du parasite.

Notamment, après l'injection intrahémocœlienne de 50 éléments bactériens environ dans la cavité viscérale de l'hôte, si un individu *N. canescens* parasite celui-ci, la tarière pourra dans certains cas transmettre le microbe d'un hôte malade à un hôte sain et l'infecter durant le processus de ponte. Dans les conditions naturelles, la tarière de *N. canescens* peut s'infecter non seulement, en parasitant un hôte malade, mais également au contact de la farine contaminée dans laquelle l'entomophage cherche son hôte.

Pour expliquer les complexes pathologiques ainsi créés soit naturellement, soit expérimentalement, nous avons suivi le déroulement du processus de contamination. L'interprétation histopathologique des rapports du complexe blessure-infection à *B. thuringiensis* et l'étude du mode d'action de la bactérie introduite par le parasite entomophage dans l'hémolymphe nous suggèrent les conclusions suivantes :

La comparaison des observations cliniques, histologiques et hématologiques qui suivent l'infection de l'hôte par le parasitisme de *N. canescens* révèlent une discordance chronologique entre le symptôme pathologique et l'état des hémocytes d'une part, et le développement bactérien septicémique d'autre part ; celui-ci est postérieur à la paralysie dont l'hôte est atteint et qui correspond à l'altération des cellules sanguines. On ne dénote pas de changements notables du pH du sang de l'hôte dû à l'action de *B. thuringiensis*, cependant celui-ci normalement légèrement acide a tendance à devenir neutre et très rarement légèrement alcalin après quelques heures qui suivent l'introduction du germe dans l'hémolymphe. Ainsi, la présence de signes cliniques accompagnés de lyse des hémocytes font supposer un effet toxique de *B. thuringiensis* aussitôt après la pénétration des germes dans l'hémolymphe. L'effet activateur d'altérations cellulaires et de la paralysie par le surnageant de culture de *B. thuringiensis* a été démontré expérimentalement.

Les lésions constatées à la suite d'injection de surnageant stérilisé ou non étant comparables à celles qui précèdent l'évolution de la septicémie à *B. thuringiensis* au cours de l'infection naturelle consécutive au parasitisme par *N. canescens*, nous pouvons penser que l'infection est composée d'abord d'une phase d'intoxication due à la sécrétion de toxines, par les bactéries introduites dans l'hémolymphe et d'une deuxième phase de développement bactérien intense qui survient progressivement après l'altération des hémocytes et de l'hémolymphe ; ainsi, la septicémie généralisée à *B. thuringiensis* est chronologiquement secondaire.

L'ensemble du phénomène analysé apparaît comme l'enchaînement d'un acte de parasitisme suivi d'une réaction de blessure puis d'une réaction hémocytaire accompagnée d'altérations cellulaires et tissulaires profondes, et enfin d'une prolifération bactérienne septicémique chronologiquement secondaire ; du point de vue pathologique, l'introduction de la tarière de l'entomophage, souillée de *B. thuringiensis* s'avère être un mode de contamination efficace.

Pour interprétation complémentaire de ces phénomènes pathologiques, nous avons entrepris des essais avec des souches acristallogènes, sporogènes et asporogènes de *B. thuringiensis* dont les résultats encore incomplets feront l'objet d'une publication ultérieure.

L'inactivité de *B. thuringiensis* sur la survie et la descendance de *N. canescens* qui ne sont pas affectées ; les chenilles intoxiquées par des doses sublétales permettent l'évolution larvaire de l'entomophage.

D'où l'intérêt écopathologique de notre étude montrant à la fois une tolérance réciproque entre une action synergique des deux parasites, microbien et entomophage et même le rôle vecteur de l'entomophage susceptible de propager une épizootie bactérienne dont les processus morbides sont très différents de l'infection *per* oral et surtout beaucoup plus aigus et rapides.

Il semble que des aspects écopathologiques semblables existent dans d'autres complexes parasitaires et il serait intéressant de les rechercher notamment dans les cas de maladies à virus.

RÉSUMÉ

La présente étude a été suggérée par l'observation d'une épizootie naturelle à *Bacillus thuringiensis* chez *Ephestia kühniella* ZELL. (Lepidoptera) en présence d'une importante population de son parasite *Nemeritis canescens* GRAV. (Ichneumonidae).

Du point de vue écologique, une relation entre l'épizootie bactérienne de l'hôte commun et la présence du parasite entomophage a été supposée. Ainsi, dans ce genre de recherches épizootiologiques, il était indispensable de tenir compte de constantes biologiques et écologiques, et également de la pathologie du complexe hôte-parasite entomophage-parasite microbien.

1. *Rappel de notions biologiques sur l'hôte* Ephestia kühniella ZELL.

Ce microlépidoptère sans diapause provoque des dégâts considérables dans les entrepôts de farine. Il donne une nouvelle génération en 40-50 jours à 25°C, 60-80 p. 100 H. R., et on dénombre jusqu'à 8 stades larvaires. Mais leur nombre peut varier suivant les conditions de nourriture, de température. Leur durée de développement est de 38,3 jours à 25°C. Les ovaires d'une femelle peuvent contenir jusqu'à 292 œufs et plus d'après NORRIS (407 œufs) ou OZER (420 œufs). La durée du cycle évolutif est de 74 jours à 20°C et de 171 jours à 15°C.

2. *Caractéristiques biologiques et écologiques de* Nemeritifs canescens GRAV.

N. canescens est une espèce endoparasite des deux derniers stades larvaires d'*E. kühniella* par préférence, et également, mais moins fréquemment, du plus jeune stade et des chrysalides à chitine fraîche. Cet Ichneumonide présente une parthénogenèse constante (thélytoquie).

L'imago, dès la sortie, est apte à déposer ses œufs mûrs dans le corps de l'hôte qu'il explore avec intensité. Il déploie une grande activité de ponte à 20°C et à 25°C ; par contre, à 15°C il reste peu vigoureux et ses actes de ponte se produisent à de rares intervalles. Le comportement de ponte fixé en général dès les premières heures de vie est composé de trois phases : celle de la prospection (à l'aide des antennes et de piqûres de sondages de la tarière) et de localisation de l'hôte, celle de la ponte effective et celle de nettoyage de la tarière. Le chimiotropisme de la soie des larves de l'hôte joue un rôle important dans ce comportement : l'hôte entouré de soie surtout fraîche est préféré.

Ce comportement de ponte encadre le phénomène de superparasitisme. En effet, dans une seule larve ou chrysalide parasitée, on peut retrouver plusieurs œufs ou larves en voie de développement, mais toujours un seul imago émerge. La répartition des œufs pondus résulte du hasard. L'augmentation du nombre d'hôtes en contact diminue le superparasitisme, mais on ne l'élimine pas complètement. Le phénomène de superparasitisme semble être lié à la pression ovarienne d'œufs mûrs stockés dans les oviductes dès la sortie de l'imago.

On constate un arrêt de croissance des individus surnuméraires de *N. canescens* dans la cavité générale de l'hôte. Toujours le développement plus avancé d'une des larves du parasite réduit les autres à l'atrophie.

Au total, la durée du cycle évolutif de *N. canescens* est de 22 jours à 25°C, de 36 à 41 jours à 20°C et de 135 à 150 jours à 15°C. A 15°C pratiquement, on obtient seulement une très faible descendance ; les parasites meurent au cours de leur trop lent développement.

Durant le développement larvaire une maladie physiologique des larves de *N. canescens* fut observée. Les larves « sorties » accidentellement de leur hôte ne trouvant aucun support pour la fixation du fil de soie retiennent la soie. Cette rétention un effet inhibiteur sur la nymphose ; par suite les larves meurent, se mélanisent, subissent une sorte de momification et se dessèchent sans putréfaction. Les larves placées dans des conditions expérimentales permettant le rejet de la soie poursuivent leur processus de métamorphose et donnent des imagos viables.

La durée de la vie imaginale du parasite dépend de la température, de la nourriture et de son activité parasitaire. A la température de 15°C ou en dessous, où l'activité de ponte de *N. canescens* est faible, la vie de l'imago est prolongée. Cette prolongation peut être obtenue également par l'alimentation de l'entomophage. Par exemple, à 15°C l'imago sans nourriture et sans contact avec l'hôte vit 17 jours en moyenne et 43 jours s'il se nourrit avec une solution de 10 p. 100 d'eau sucrée. L'activité parasitaire croissante de *N. canescens* entraîne une diminution de la durée de vie qui peut être attribuée à la fatigue du parasite durant la ponte. Ainsi la durée de vie augmente avec la diminution du nombre d'hôtes en contact.

Les ovaires de *N. canescens* du type méroïstique polytrophique comptent jusqu'à 16 gaines ovariques chacun. Ils débouchent dans un oviducte assez long ayant le pouvoir de distension et abritent un grand nombre d'œufs retenus. Au total, une femelle peut produire de 242 à 316 œufs. Une importante partie des œufs est mûre dès la sortie de l'imago, stockée dans les oviductes et prête à être déposée. On observe un pouvoir de rétention d'œufs en absence de l'hôte, et leur stockage, tandis que l'oosorption d'ovocytes n'intervient que tardivement. La longue rétention ne semble pas avoir d'influence néfaste sur la viabilité des œufs.

En général, le plus grand effort de parasitisme de *N. canescens* a lieu dans les trois premiers jours de sa vie.

Le potentiel de reproduction du parasite est le plus élevé à 25°C pour un contact avec 200 hôtes, par contre pratiquement sans signification à 15°C. C'est à 25°C que *N. canescens* trouve l'optimum de conditions pour un parasitisme efficace de son hôte, où sur deux générations du parasite il y a seulement une génération d'*E. kühniella*. Aux basses températures, on constate un synchronisme de développement du parasite et de l'hôte.

3. *Influence de* Nemeritis canescens GRAV. *dans le déclenchement de l'épizootie à* Bacillus thuringiensis BERL. *chez* Ephestia kühniella ZELL.

Une épizootie naturelle à *B. thuringiensis* fut observée chez *E. kühniella* en présence d'une importante population du parasite *N. canescens*.

Les recherches dans lesquelles ont été utilisées les deux derniers stades larvaires d'*E. kühniella*, les imagos de *N. canescens* et la bactérie *B. thuringiensis* BERLINER var. *thuringiensis*, sérotype I (de BARJAC, BONNEFOI, 1962) permettent d'établir que :

a) Il y a une relation entre l'épizootie bactérienne et le parasitisme d'*E. kühniella* par *N. canescens*. Elle existe sous forme de la transmission du germe par les soins de l'entomophage et de l'introduction de la bactérie qui souille la tarière dans la cavité générale de l'hôte. Il y a par suite une infection de l'hémolymphe.

b) La tarière de *N. canescens* peut être souillée dans un milieu contaminé par *B. thuringiensis*, dans lequel l'hôte est recherché. Le contrôle bactériologique de la tarière révèle dans ce cas la présence du germe.

c) La maladie provoquée chez *E. kuhniella* résultant de l'introduction de *B. thuringiensis* dans l'hémolymphe de l'hôte par la tarière du parasite est une infection bactérienne distincte de l'intoxication classique par ingestion de spores et de cristaux de *B. thuringiensis* décrite par YAMVRIAS (1962). En effet, l'infection de l'hémolymphe se traduit par une paralysie de l'hôte. L'effet est plus rapide, la mortalité intervient en général dans les premières 24 heures, avec noircissement complet et rapide de toute la partie du corps.

d) L'infection à *B. thuringiensis* de l'hémolymphe s'effectue par l'introduction directe de la bactérie par la tarière de *N. canescens* mais également. il peut y avoir une infiltration mécanique du germe par la blessure faite durant le dépôt de l'œuf. Dans ce cas, les chances d'infection diminuent avec le processus de guérison de la blessure.

e) L'incidence de mortalité de l'hôte augmente avec le nombre de blessures provoquées, ainsi qu'avec la dose de *B. thuringiensis*. Par exemple, pour la dose de 5 p. 100 de la préparation E 61, la mortalité des chenilles ayant une blessure artificielle est de 30 p. 100 tandis qu'elle atteint 90 p. 100 pour cinq blessures. L'accroissement de cette mortalité avec le nombre de piqûres (blessures) expérimentales est comparable à celui qui est observé dans le cas de superparasitisme de *N. canescens* où chaque larve de l'hôte reçoit un nombre plus ou moins grand de coups de tarière.

f) On constate la possibilité d'une contamination de la tarière de *N. canescens* parasitant une larve ayant subi une injection intrahémocœllienne de 50 éléments bactériens et plus et l'infection d'un hôte sain s'il est parasité à son tour ;

g) La tarière de cet Hyménoptère peut être, dans certaines conditions, un vecteur écologique d'infection à *B. thuringiensis* et de dispersion de ce germe.

4. *Interprétation de la pathogenèse du complexe pathologique « blessure-infection » à* B. thuringiensis BERL. *par études histopathologiques*

Cette étude du complexe pathologique relatif à la blessure provoquée par la piqûre d'un entomophage au moment de la ponte et la manifestation consécutive

d'une infection microbienne à *B. thuringiensis* présente une contribution originale aux connaissances acquises jusqu'à présent sur les modalités d'action de ce germe.

a) L'étude du processus d'infection par *B. thuringiensis* d'*E. kühniella* déclenché par le parasitisme de *N. canescens* montre qu'il existe plusieurs périodes consécutives à l'infection par l'introduction de la tarière du parasite. Au moment de la contamination jusqu'à 9 heures, aucun symptôme externe n'est observé. Une réaction hémocytaire contre la blessure dénote un processus pathologique. A la proximité du passage de la tarière, on observe quelques formes végétatives de *B. thuringiensis*.

L'examen de l'hémolymphe ne montre pas de multiplication de la bactérie dans la cavité générale de l'hôte ni de lésions des hémocytes.

Pendant la deuxième période allant jusqu'à la 13^{e} heure environ une paralysie s'affirme. Parallèlement, les cellules sanguines présentent des altérations progressives sous forme de vacuolisation et de la désagrégation de leur cytoplasme ; pourtant également aucun développement de formes végétatives des bactéries introduites n'est observé ni sur coupes histologiques, ni sur étalement d'hémolymphe.

Ce n'est que durant la dernière période, lorsque les cellules sanguines sont déjà détruites que nous assistons à la formation de foyers de bactéries et ensuite à la multiplication rapide de ces dernières dans l'hémolymphe ainsi qu'à l'envahissement de toute la cavité générale et même des tissus adipeux et hypodermiques. L'insecte meurt de septicémie généralisée.

b) Les recherches sur le mécanisme d'action de *B. thuringiensis* dans l'hémolymphe d'*E. kühniella* montrent qu'il n'y a pas de synchronisme, d'une part entre la paralysie qui se manifeste en même temps que les altérations des cellules sanguines, et d'autre part le développement septicémique dans la cavité générale. Celui-ci semblerait jouer un rôle chronologiquement secondaire dans le processus de la pathogenèse complexe à *B. thuringiensis*.

Les signes postérieurs et accompagnant la paralysie tels que la lyse des hémocytes laissent supposer un effet toxémique de *B. thuringiensis*. Une première hypothèse consistait à rapporter cet effet toxémique à l'action de la toxine soluble thermostable décrite par Mac Connell et Richards (1959), Burgerjon et de Barjac (1960). Les expériences faites par l'injection d'un surnageant stérilisé à 120°C durant 15 minutes d'une culture de *B. thuringiensis* berliner exempt de germes vivants ont montré effectivement des altérations hémocytaires, cependant celles-ci ne sont pas exactement les mêmes que celles qui sont observées après l'injection du surnageant non stérilisé en question ou avant la manifestation speticémique résultant du développement bactérien dans la cavité générale de l'hôte.

La reproduction expérimentale de ce dernier processus infectieux par l'injection d'une culture bactérienne totale donne les mêmes manifestations que dans le cas de l'infection provoquée par *N. canescens*. Cependant, les altérations hémocytaires sont plus précoces et plus intenses lorsque aux nombres de bactéries injectées dans la cavité viscérale de l'hôte fut additionné le surnageant de *B. thuringiensis* berliner. La mortalité étant également plus rapide, nous pensons que le surnageant de culture de *B. thuringiensis* berliner est en partie responsable des manifestations pathologiques constatées.

5. *Notions sur les relations entre les deux parasites microbien et entomophage et leur hôte*

La détermination de la mortalité de l'hôte due aux deux types parasitaires nous amène à constater qu'il y a une survie du parasite *N. canescens* dans les conditions d'intoxication sublétales de chenilles d'*E. kühniella* par *B. thuringiensis*. Comme ceci est décrit le taux de survie de l'entomophage se présente différemment suivant les modalités d'application simultanée ou non des parasites : microbiens et entomophages sur l'hôte. Cette descendance peut être de l'ordre de 70 p.100. Cependant, les infections de l'hémolymphe à nombre élevé d'éléments bactérienscom promettent le développement de *N. canescens* à cause de la mort trop rapide de l'hôte qui survient en général dans les premières 24 heures.

La longévité imaginale du parasite n'est pas affectée par *B. thuringiensis* ni le potentiel des imagos issus des hôtes intoxiqués par la bactérie.

Du fait du superparatitisme de *N. canescens*, l'hôte peut être infecté par un nombre considérable d'éléments bactériens de *B. thuringiensis*. Dans ces conditions, il n'existe aucune chance pour le développement d'œufs déposés. Ainsi, d'un côté le superparasitisme s'avère néfaste pour le développement de *N. canescens*, mais d'un autre côté c'est un facteur écopathologique positif pour une réduction rapide de la population d'hôtes qu'il infecte durant le processus de ponte parasitaire.

SUMMARY

THE ROLE OF « NEMERITIS CANESCENS » GRAV. IN THE INFECTION CAUSED BY « BACILLUS THURINGIENSIS » ON « EPHESTIA KÜHNIELLA » ZELL

The present study was suggested by the observation of a natural epizooty caused by *Bacillus thuringiensis* on *Ephestia kühniella* ZELL (Lepidoptera) in presence of a large population of its parasite *Nemeritis canescens* GRAV. (Ichneumonidae).

From the ecological standpoint, a relation between the bacterial epizooty of the common host and the presence of the entomophagous parasite was supposed. Therefore, it was essential, for this kind of epizootiologic research, to take into account biological and ecological constants, as well as the pathology of the host/entomophagous parasite/microbial parasite complex.

In the first part of his work, the author recalls the biological notions concerning the host *E. kühniella* and establishes the biological and ecological characteristics of the parasite *N. canescens*, whereas the epizootiologic problems and the interpretation by histopathologic studies of the pathogenesis of the pathological complex wound/infection due to *B. thuringiensis* are dealt with in the second part of the paper.

The investigations, in which were used the last two larval stages of *E. kühniella*, the imagos of *N. canescens* and the bacteria *B. thuringiensis* BERLINER var. *thuringiensis* serotype 1 (de BARJAC, BONNEFOI, 1962) allow to state that :

1° There is a relation between the bacterial epizooty and the parasiting of *E. kühniella* by *N. canescens*. It exists in the form of the transmission of the germ by the entomophage and the introduction of the bacteria, which soils the terebra, into the host's body. This results in an infection of the hæmolymph, which way also happen through the mechanic infiltration of the germ by the wound caused during the egg-laying. The incidence of mortality increases with the number of wounds caused, as well as with the dose of *B. thuringiensis* ; whence the interest of the superparasitism of *N. canescens*. The transmission of the germ from an infected host to a healthy one itself parasited by the entomophage, has been observed.

2° The disease caused in *E. kühniella* as a result of the introduction of *B. thuringiensis* into the host's hæmolymph by the parasitis terebra is an infection which is distinct from the classical

intoxication through ingestion of spores or crystals of *B. thuringiensis* as described by YAMVRIAS. In fact the infection of the hæmolymph shows it self by a paralysis of the host.

The effect is faster : death usually occurs during the first 24 hours, with a complete and fast blackening of the whole body.

The study on the process of infection in *E. kühniella*, by *B. thuringiensis*, which is started by the parasitism of *N. canescens*, shows that from the moment of the contamination until 9 hours later, no outward symptoms have been noted. A hæmocytal reaction against the wound indicates a pathological process. In the vicinity of the spot where the terebra penetrated, a few vegetative forms of *B. thuringiensis* have been observed.

The analysis of the hæmolymph does not reveal any multiplication of the bacteria inside the host, or any lesions of the hæmocytes.

During the second period which stretches until about the 13th hour, a paralysis asserts itself. Parallely, the blood cells show progressive alterations, i.e. vacuolisation and desintegration of their cytoplasm ; however no development of any vegetative forms of the injected bacteria has been observed.

It is only during the last period, when the blood cells are already destroyed, that one notes the formation of bacterial focuses and after that a fast multiplication of these latter in the hæmolymph as well invasion of the whole inside part of the body. The host dies of generalized septicæmia.

The investigations on the mechanism of action of *B. thuringiensis* in the hæmolymph of *E. kühniella* show that there is no synchronism, between the paralysis which appears simultaneously with the alterations of the blood cells on one hand, and the septicæmic development in the body on the other.

The latter seems to play a chronologically secondary part in the process of the complex pathogenesis due to *B. thuringiensis*.

Finally, it was established that the supernatant from a culture of *B. thuringiensis* was partly responsable for the pathological manifestations observed.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABDERHALDEN E., ZUMSTEIN O., 1932. Über den gehalt von Leim aus Seide von *Bombyx mori* L. *Z. phys. Chem.*, **207**, 141-146.

AHMAD T., 1936. The influence of ecological factors on the Mediterranean flour moth, *Ephestia kühniella* and its parasite *Nemeritis canescens*. *J. Anim. Ecol.*, **5**, 67-93.

ALLÉGRET P., 1954. Influence de la rétention expérimentale de soie sur la métamorphose de *Galleria mellonella* L. *C. R. Acad. Sci. Fr.*, **238**, 623-625.

ALLÉGRET P., 1956. *Étude des glandes séricigènes des larves de Lépidoptères. Leur rôle dans la physiologie du développement.* Thèse Université de Paris, 345 pages.

ANGUS T. A., 1954. A bacterial toxin paralysing silkworm larvae. *Nature*, **173**, 545.

ARKHANGELSKII P. P., 1931. Data on pests of dried fruit in Central Asia. *Tashkent, Sr, Az. Inst. Zastch. Rast.*, n° **22**, 43 pages (Rev. appl. Ent (A) 14, 408-409).

AUBERT J. F., 1959. Biologie de quelques Icheunmonidae Pimplinae et examen critique de la théorie de Dzierzon. *Entomophaga*, **4**, 75-188.

BALACHOWSKY A., MESNIL L., 1936. *Les insectes nuisibles aux plantes cultivées.* Éd. sp. Paris, Et. Busson **1** et **2**, 1-1137, 1137-1921.

BEARD R. L., 1950. Experimental observations on coagulation of insect hemolymph. *Physiol. Zool.*, **23**, 47-47.

BEIRNE B. P., 1952. *British Pyralid Plum Moths.* Frederick Warne and C° Ltd, London 207 p.

BELING I., 1932. Zur Biologie von *Nemeritis canescens* GRAV. (Hym. Ophion). I. Züchtungserfahrungen und ökologische Beobachtungen. *Z. Angew. Entomol.*, **19**, 223-249.

BELING I.,1934. Über den Ausflug der Schlupwespe *Nemeritis canescens* GRAV. und über die Bedentung des Geruchssiennes bei dei Rückkehr gum Wirt. Zur Biologie von *Nemeritis canescens* GRAV. *Biol. Zbl.*, **54**, n° 3-4, 147-169.

BÉNASSY C., 1961. *Contribution à l'étude de l'influence de quelques facteurs écologiques sur la limitation des populations de cochenilles-diaspines.* Thèse Université Paris, I. N. R. A., 1-165.

BERLINER E., 1911. Über die Schlaffsucht der Melhmottenraupe. *Z. ges. Getreidewesen*, **3**, 63-70.

BERLINER E., 1915. Über die Schlaffsucht der Mehlmottenraupe (*Ephestia kühniella* ZELL.) und ihre Erreger *Bacillus thuringiensis* n. sp. *Z. Angew. Entomol*, **2**, 29-56.

BILIOTTI E., 1955. Survie des larves endophages des Tachinaires à une mort prématurée de leur hôte par maladie. *C. R. Acad. Sci., Fr.*, **240**, 1021-1023.

BILIOTTI E., 1956. Entomophages et maladies des insectes. *Entomophaga*, **1**, 45-51.

BILIOTTI E., DELANOUE P., 1959. Contribution à l'étude bologique d'*Opius concolor* SZEPL (Hym. Braconidae) en élevage en laboratoire. *Entomophaga*, **4**, 7-14.

BILIOTTI E., VAGO C., 1961. Caractères de l' « enkystement » des larves de Tachinidae dans les chenilles de Lépidoptères. *C. R. Acad. Sci. Fr.*, **252**, 3330-3332.

BORDAS M., 1894. *Appareil glandulaire des Hyménoptères.* Thèse Univ. Paris, Masson, 362 pages.

BOUNHIOL J. J., 1945. La rétention expérimentalement provoquée dans les tubes de Malpighi entrave la nymphose des chenilles du *Bombyx mori*. *C. R. Acad. Sci., Fr.*, **220**, 64-65.

BOSELLI F. B., 1933. Contro l'*Ephestia cautella* (Farfalla dei fichi sechi). *Picentino*, n° **1-3**, 9-23, Palerme.

BRINDLEY T. A., 1930. The growth and development of *Ephestia kühniella* ZELLER, and *Tribolium confusum* DUVAL, under controlled conditions of temperature and relative humidity. *Ann. Entomol. Soc. amer* **23**, 741-757.

BROCHER F., 1926. Observations sur le *Perithous mediator* GRAV. Étude anatomique de la tarière, de ses muscles et de son fonctionnement. *Ann. Soc. Entomol. Fr.*, **95**, 391-410.

BUCHER G. E., 1963. Transmission of bacterial pathogens by the ovipositor of hymenopterous parasite. *J. Ins. Pathol.*, **5**, 277-283.

BURGERJON A., YAMVRIAS C., 1959. Titrage biologique des préparations à base de *Bacillus thuringiensis* BERLINER vis-à-vis d'*Anagasta kühniella* ZELL. *C. R. Acad. Sci. Fr.*, **249**, 2871-2872.

BURGERJON A., BARJAC H de., 1960. Nouvelles données sur le rôle de la toxine soluble thermostable produite par *Bacillus thuringiensis* BERLINER. *C. R. Acad. Sci., Fr.*, **241**, 911-912.

BURGERJON A., BARJAC H de., 1960. Essais préliminaires sur le rôle insecticide de la toxine thermostable produite par *Bacillus thuringiensis* BERLINER. *XI^e Congr. Intern. Entomol.* Vienne 1960, **11**, 835-839.

BURGERJON A., 1962. Principes thermostables dans les préparations industrielles à base de *Bacillus thuringiensis* BERLINER. *II^e Coll. Intern. Pathol. Ins. Lutte Microbiol.*, Paris 1962, 227-237.

BURGERJON A., 1962. Les méthodes de titrage et la standardisation des préparations de *Bacillus thuringiensis* BERLINER. *II^e Coll. Intern. Path. Ins. Lutte Microbiol.* Paris 1962, 255-262.

BURGERJON A., BARJAC H de., 1962. Étude de la toxine soluble thermostable chez différentes souches de *Bacillus thuringiensis* BERLINER. *II^e Coll. Intern. Pathol. Ins. Lutte Microbiol.* Paris 1962, 221-226.

BURKHATDT F., 1919. Zur Biologie der Mehlmotte (*Ephestia kühniella* ZELL.). *Z. Angew. Entomol.*, **5**, 25-60.

BUSNEL R., 1937. Contribution à l'étude anatomique et physiologique de la chenille d'*Ephestia kühniella* ZELL. (Teigne de la farine). *R. Path. vég. Entomol. agric. Fr.*, **24**, 137-162.

CALMETTE A., BOQUET A., NÈGRE L., BRETEY J., 1948. *Manuel technique de microbiologie et de sérologie.* Masson & C^ie, Paris, 727 pages.

CANDURA G. S., 1928. Contributo alla conoscenza della Tignola grigia delle provviste alimentari (*Ephestia kühniella* ZELL.), e del suo parassita *Nemeritis canescens* GRAV. *Boll. Lab. Zool. Portici*, **21**, 149-214.

CANDURA G. S., 1937. Studi sugli insetti dannosi ai semi e ai viveri nella Venezia Tridentina. Compartamento biologico della *Plodia interpunctella* HB. *Studi Trentini*, **18**, 263-315.

CHAUVIN R., 1956. *Physiologie de l'Insecte.* I. N. R. A., Paris, 917 pages.

CHITTENDEN F. H., 1897. Some little known insects affecting stored vegetable products. *U. S. Dep. Agric. Div. Entomol. Bull.*, **8**, 1-45.

CHITTENDEN F. H., 1911. The fig moth. *U. S. Dep. Agric. Bur. Entomol, Bull.*, **104**, 9-40.

CHORINE V., 1930. Sur une microsporidie nouvelle (*Telohania vanessae*) parasite des chenilles de *Vanessa urticae* L. *Zbl. Bakteriol.*, **117**, 86-89.

CLAUSEN C. P., 1940. *Entomophagous insects.* Mc Graw Hill Book Co., N. Y. et London, 688 pages.

COURTOIS A., 1928. Variation de la teneur en acides aminés de quelques Lépidoptères pendant la Nymphose *C. R. Acad. Sci. Fr.*, **186**, 1575-1576.

COUVREUR E., CLÉMENT H., 1919-1923. Sur les troubles produits dans l'évolution des Vers à soie quand on les empêche de filer. *Labor. Études de la soie*, 16.

COUVREUR E., CLÉMENT H., 1922. Sur les effets de la rétention de la soie chez les larves de *Sericaria mori*. *C. R. Soc. Biol. Fr.*, **87**, 1127-1129.

DAUTERT-WILLIMZIK E., 1931. Einige Beobachtungen über das bisher unbekannte Männchen der Schlupf wespe, *Nemeritis canescens* GRAV. *Zool. Anz.*, **93**, 274.

DAVIAULT L., 1930. Notes biologiques sur *Nemeritis canescens* GRAV. et sur la morphologie de ses divers stades. *Rev. Path. vég. Entomol. agric.*, **17**, 84-89.

DE BARJAC H., BONNEFOI A., 1962. Essai de classification biochimique et sérologique de 24 souches de *Bacillus* du type *B. thuringiensis*. *Entomophaga*, **7**, 5-31.

DEMJANOVSKI S., BOUROVA A. A., 1951. L'acide pyruvique et son amination dans l'organisme du Ver à soie du chêne, *Antheraea pernyi* (en russe). *Biokhimija S. S. S. R.*, **16**, 29-35.

DETHIER V. G., 1947. The reponse of Hymenopterous parasites to chemical stimulation of the ovipositor. *J. exper. Zool.*, **105**, 199-207.

DIAMOND V. R., 1929. The biology of *Nemeritis canescens*, a parasite of the Mediterranean flour moth. *60th Ann. Rep. Entomol. Soc. Ontario*, 84-89.

DIEUZEIDE R., 1926. Le papillon gris de la farine (*Ephestia kühniella* ZELLER). *Rev. Zool. agric. appl.*, **25**, 17-25.

DONOHOE H. C., BARNES D. F., 1934. Notes on field trapping of Lepidoptera attacking dried fruits. *J. econ. Entomol.*, **27**, 1067-1072.

DRILHON A., VAGO C., 1960. Recherches sur le mécanisme d'action de *Bacillus thuringiensis*. Effet de la toxémie sur les fractions protéiques de l'hémolymphe. *Antonie van Leenwenhoek*, **26**, 407-412.

DUFOUR L., 1841. Recherches anatomiques et physiologiques sur les Orthoptères, les Hyménoptères et les Névroptères. *Mém. Acad. Roy. Sc. Inst. Fr.*, **7**, 267-647.

DUNHAM W. E., 1929. Some parasites of the Indian meal moth. *Am. Bec. J.*, **69**, 396.

DUTKY S. R., 1940. Two new spore-forming bacteria causing milky diseases of Japanese beetle larvae. *J. agric. Res.*, **61**, 57-68.

ERMIN R., 1939. Über Bau und Funktion der Lymanphocyten der Insekten (*Periplaneta americana* L.) *Z. Zellforsch. Abt. A.*, **29**, 613-669.

EUVERTE G., MARTOURET D., 1963. Contribution à l'emploi de *Bacillus thuringiensis* pour la préservation de la cire d'Abeilles contre *Galleria mellonella* L. *Ann. Abeille*, **6**, 267-276.

FABRE J. H., 1879-1890. *Souvenirs entomologiques.* Delagrave, Paris 3^e série, 317-433.

FISHER R. C., 1959. Life history and ecology of *Horogenes chrysostictos* GMELIN (Hym, Ichneumonidae) a parasite of *Ephestia sericarium* SCOTT. (Lep. Phycitidae). *Canad. J. Zool.*, **37**, 429-446.

FISHER R. C., 1961. A study in insect multiparasitism. Host selection and oviposition (I). *J. exper. Biol.*, **38**, 267-275.

FISHER R. C., 1961. A study in insect multiparasitism. The mecanism and control of competition for possession of the host (II). *J. exper. Biol.*, **38**, 605-628.

FISHER R. C., 1962. A study in insect multiparasitism. The effect of multiparasitism on populations of two parasites and their host (III). *Ecology*, **43**, 314-316.

FLANDERS S. E., 1944. Olfactory responses of parasitic Hymenoptera in relation to their mass production. *J. écon. Entomol.*, **37**, 711-712.

FLANDERS S. E., 1945. The bisexuality of uniparental Hymenoptera, a function of the environment. *Amer. Nat. Lancaster*, **79**, 122-141.

FLANDERS S. E., 1958. The *Ephestia-Idechtis* ecosystem for illustrating population dynamics. *Ecology* **39**, 545-547.

FLANDERS S. E., 1959. Areas of discovery on the *Ephestia-Idechthis* ecosystem delimited by mermiculite. *Ecology*, **40**, 165.

FLANDERS S. E., 1963. Hyperparasitisme, un phénomène de réciprocité. *Canad. Entomol*, **95**, 707-720.

FLANDERS S. E., BADGLEY M. E., 1963. Prey-predator interactions in self-balance laboratory populations. *Hilgardia*, **35**, 145-183.

FRAENKEL G., BLEWETT M., 1946. Linoleic acid, vitamin E and other fat soluble substances in the nutrition of certain insects : *Ephestia kühniella, cautella* and *Plodia interpunctella*. *J. exper. Biol.*, **22**, 162-190.

FRAENKEL G., BLEWETT M., 1947. The importance of folic acid and unidentified members of the vitamin B complex in the nutrition of certain insects. *Biochem. J.*, **41**, 469-475.

FRAENKEL G., BLEWETT M., 1947. Linoleic acid and arachidonic acid in the metabolism of two insects *Ephestia kühniella* (LEP.) and *Tenebrio molitor* (COL.). *Biochem. J.*, **41**, 475-478.

FRANZ J., 1955. Die küntlische verbreitung von virosen einiger blattwespen (Diprionidae) innerhalb und ausserhalb ihres endemiegebietes.. « *Verhandlungen der Deut. Zool. Gesellschaft in Erlangen* 1955 » .S. 407-412.

FRANZ J., KRIEG A., LANGEBUCH R., 1955. Unter suchungen uber den Einfluss der Passage durch den Darm von Raubinsekten und Vögeln auf die Infektiosität insektelpathogener Viren. *Z. Pflanzenkrankh. Pflschutz.*, **62**, 721-726.

FROGGATT W. W., 1912. Parasitic enemies of the mediterranean flour moth (*Ephestia hükniella* ZELLER). *Agric. G. New. South Wales*, **23**, 307-311.

GHELELOVITCH S., 1947. Deux sporozoaires parasites d'*Ephestia kühniella*. *C. R. Acad. Sci. Fr.*, 685-687.

GHELELOVITCH S., 1948. *Coleogregarina ephestiae* ; Schizogregarine parasite d'*Ephestia kühniella* Z. *Arch. Zoll. exper.*, **85**, 155-168.

GILSON G., 1890. La soie et les appareils séricigènes. *La cellule*, **6**, 115-182.

GILSON G., 1894. La soie et les appareils séricigènes. *La cellule*, **10**, 37-63.

GLASER R. W., 1915. Wilt of gypsy moth caterpillars. *J. agric. Res.*, **4**, 101-128.

GOLEBIOWSKA Z., 1956. Mklik maczny (*Ephestia kühniella* ZELL.) Biologia i zwalczanie. *Rocz. Nauk. Rol.*, **73**, A, 2, 167-244.

GRASSÉ P. P., LESPÉRON L., 1934. Quelques données nouvelles sur la sécrétion de la soie chez le Bombyx du mûrier (*Sericaria mori* L.). *Arch. Zool. exper.* **76**, 90-101.

GRASSÉ P. P., LESPÉRON, 1935. Accumulation de colorants acides chez le ver à soie par des tissus différents selon la voie d'accès. *C. R. Acad. Sci. Fr.*, **201**, 618-620.

GRASSÉ P. P., 1942. Les rassemblements de sommeil des Hyménoptères et leur interprétation. *Bull. Soc. Entomol. Fr.*, **47**, 142-148.

GRAVENHORST I. L. C., 1829. Ichneumologia europaea. *Vratislaviae Pars. I-III*, 555-556.

GRÉGOIRE C., FLORKIN M., 1950. Étude au miscroscope à contraste de phase du coogulocyte, du nuage granulaire et de la coagulation plasmatique dans le sang des insectes. *Experientia*, **6**, 297-298.

GRÉGOIRE C., 1951. Blood coagulation in arthropods. Phase contrast microscopic observations on hemolymph coagulation of sixty-one species of insects. *Blood* **6**, 1172-1198.

GRÉGOIRE C., 1953. Blood coagulation in arthropods. Reaction of insect hemolymph to coagulation inhibitors of vertebrate blood. *Biol. Bull.*, **104**, 372-393.

GRÉGOIRE C., 1955. Blood coagulation in arthropods. Studies on hemolymph coagulation in 420 species of insects. *Arch. Biol.*, **66**, 103-148.

GRÉGOIRE C., 1959. Recordings of clotted hemolymph of insects by electron microscopy. *Arch. Intern. Physiol.*, **67**, 329-332.

GRISON P., 1956. Effets de la qualité de l'alimentation sur divers caractères physiologiques de deux Lépidoptères. *C. R. Acad. Sci. Fr.*, **242**, 414-416.

GRISON P., 1961. *L'utilisation d'une bactérie* Bacillus thuringiensis *dans la lutte biologiques contre les insectes nuisibles*. Univ. Paris, Palais Découverte, **A 277**, 1-25.

GRISON P., 1962. Réflexions sur l'épizootiologie. *Coll. Int. Ins. Pathol. et Lutte Microbiol.*, Paris, 1962, 483-506.

HAMLIN J. C., REED W. D., PHILLIPS M. E., 1931. Biology on the Indian meal moth on dried fruits in California. *Tech. Bull. U. S. Dep. Agric.*, **242**, 26 pages.

HANNAY A. L., FITZ-JAMES P. C., 1955. The protein crystals of *Bacillus thuriingiensis* BERLINER. *Canad. J. Microbiol.*, **1**, 694-710.

HASE A., 1937. Neue Beobachtungen über die Männchen und Weibchen der Schlupfwespe *Nemeritis canescens*. *Arb. morph. taxon. Entomol. Berlin*, **4**, 47-61.

HEIMPEL A. M., 1955. Investigations of the mode of action of strains of *Bacillus cereus* FR. and FR. pathogenic for the larch sawfly, *Pristiphora erichsonii* HTG. *Canad. J. Zool.*, **33**, 311-326.

HEIMPEL A. M., ANGUS T. A., 1959. Recent advances in the knowledge of some bacterial pathogens for insects. *Proc. Xth Intern. Congr. Entomol.*, Montreal, 1956, **4**, 711-722.

HEIMPEL A. M., ANGUS T. A., 1958. The taxonomy of insect pathogens related to *Bacillus cereus* FR. and FR. *Canad. J. Microbiol.*, **4**, 531-541.

HEIMPEL A. M., ANGUS T. A., 1959. The site of action of cristalliferous bacteria in Lepidopterous larvae. *J. Insect. Pathol.*, **1**, 152-170.

HEIMPEL A. M., ANGUS T. A., 1960. Bacterial insecticides. *Bacteriol. Rev.*, **24**, 266-288.

HEITOR F., 1962. Parasitisme de blessures par le champignon *Mucor hiemalis* WEHMER chez les insectes. *Ann. Épiphyties*, **13**, 179-203.

INOUEY R., 1912. A contribution to the study of the chemical composition of the silkworm at different stages of its metamorphisis. *J. Coll. Agric. Imp. Univ. Tokyo*, **5**, 67-79.

ISAKOVA N. P., 1958. Action des bactéries à spores du type *Bacillus cereus* FR. sur certains insectes nuisibles *Entomol. Obozren*, **37**, 846-855 (en russe).

JANISCH E., 1936. Physiologische Grundlagen der Nonnenprognose. *Anz. Schädlingskunde*, **12**, 77-78.

JONES J. C., TAUBER O. E., 1954. Abnormal hemocytes in mealworms (*Tenebrio molitor* L.). *Ann. Entomol. Soc., Amer.*, **47**, 428-444.

JONES J. C., 1962. Current concepts concerning insect hemocytes. *Amer. Zoologist*, **2**, 209-246.

KÖHLER W., 1940. Der Einfluss versichiedener Nahrungsgrade auf aussere Körpermerkmale, die Entwicklungsgeschwindigkeit, die Lebensdauer und Fortplanzungfähigkeit von *Ephestia kühniella* Z. *Biol. Zentr.*, **60**, 34-69.

KRASSILSTSCHIK I. M., 1893. La graphitose et la septicémie chez les insectes. *Mémoire Soc. Zool. Fr.*, **6**, 245,

KRIEG A., FRANZ J., 1959. Versuche zur Bekämpfung von Wachsmotten mittels Bakteriose. *Naturwissenschaften*, **46**, 22-23.

KRIEG A., 1961. *Bacillus thuringiensis* BERLINER über seine Biologie, Pathogenie und Anwendung in der biologischen Schädlingsbekämpfung. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land-u. Forstwirtsch. Dtsch.*, **103**, 79 pages

KRIEG A., 1964. *Bacillus thuringiensis* BERLINER und seine Wirkung aud die Mehlmotte *Anagasta kuhniella* ZELLER. *Z. angew. Zool.*, **51**, 13-23.

KRÜGER P., 1921. Beobachtungen am Mehlmottenparasiten *Nemeritis canescens* GRAV., zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der ausseren Anatomie der Ichneumoniden. *Z. Angew. Entomol.*, **7**, 58-67.

KURSTAK E. S., 1962. Données sur l'épizootie bactérienne naturelle provoquée par un *Bacillus* du type *Bacillus thuringiensis* sur *Ephestia kühniella* ZELL. *Coll. Intern. Pathol. Ins. Lutte Microbiol.*, Paris 1962, 245,-247.

KURSTAK E. S., 1963. Influence de la rétention de la soie sur la métamorphose d'un Hyménoptère *Nemeritis canescens* GRAV. (Ichneumonidae). *C. R. Acad. Sci., Paris*, **257**, 4042-4044.

KURSTAK E. S., 1964. Influence de *Nemeritis canescens* GRAV. (Ichneumonidae) dans le déclenchement de l'épizootie à *Bacillus* thuringiensis chez *Ephestia kühniella* ZELL. *C. R. Acad. Sci. Fr.*, **258**, 757-759.

KURSTAK E. S., 1964. Le processus de l'infection par *Bacillus thuringiensis* BERL. d'*Ephestia kühniella* ZELL. déclenché par le parasitisme de *Nemeritis canescens* GRAV. (Ichneumonidae). *C. R. Acad. Sci., Fr.*, **259**, 211-212.

KURSTAK E. S., 1964. L'infection microbienne à *Bacillus thuringiensis* BERLINER chez *Ephestia kühniella* ZELL. liée à la présence du parasite *Nemeritis canescens* GRAV. (Hym. Ichneumonidae). *XII^e Congrès Intern. Entomol. Londres* 1964, 738.

KURSTAK E. S., 1965. Action de la bactérie *Bacillus thuringiensis* BERLINER sur des cellules sanguines d'*Ephestia kühniella* ZELLER (Lepidoptera). *C. R. Acad. Sci., Fr.*, **260**, 8, 2368-2370.

KUTTAMATHIATHU J. J., 1956. De la présence de chimiorécepteurs sur la tarière de *Philotrypesis caricae* L. (Hym. Chalcid. Callimomidae). *C. R. Acad. Sci., Fr.*, **243**, 1163-1164.

LABEYRIE V., 1960. Contribution à l'étude de la dynamique des populations d'insectes. I. Influence stimulatrice de l'hôte *Acrolepia assectella* Z. sur la multiplication d'un Hyménoptère Ichneumonidae (*Diadromus* sp.) *Entomophaga, Mémoire hors série n° 1*, 1960, 193 pages.

LACAZE-DUTHIERS M., 1849. Recherches sur l'armature génitale des insectes. *Ann. Sci. Nat. Zool.* **3**, 353-374.

LANGERON M., 1949. *Précis de microscopie*. Masson et C^ie Édit., Paris, 1-1430.

LEBEDEV A. G., 1930. Zur Frage der geographischen Herkunft der Mehlmotte (*Ephestia kühniella* ZELL.). *Z. Angew. Entomol.*, **16**, 597-605.

LEPIGRE A. L., 1951. *Insectes du logis et du magasin*. A. Joyeux, Alger, 329 pages.

LESPÉRON L., 1937. Recherches cytologiques et experimentales sur la sécrétion de la soie et sur certains mécanismes excréteurs chez les Insectes. *Thèse Paris, Arch. Zool. Exp.*, **79**, suppl., 156 pages.

LHOSTE J., MARTOURET D., ROCHE A., 1964. Les processus d'intoxications par la toxine du cristal de *Bacillus thuringiensis* BERLINER ; action sur le mesentéron de *Pieris brassicae* L. *XII^e Cong. Intern. Entomol. Londres* 1964, 737.

LLOYD D. C., 1938. A study of some factors governing the choice of hosts and distribution of progeny by the Chalcid, *Oocencyrtus kuwanae* HOW. *Phil. Trans. Roy. Soc. (B) London*, **461**, 275-322.

Mac Connell E., Richards A. G., 1959. The production by *Bacillus thuringiensis* berliner of a heat-stable substance toxic for insects. *Canad. J. Microbiol.*, **5**, 161-169.

Martouret D., 1960. Études préliminaires sur le mode d'action de *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* berliner vis-à-vis de *Pieris brassicae* L. *XI^e Congrès Intern. Entomol. Vienne* 1960, **11**, 849-855

Martouret D., 1961. Les toxines de *Bacillus thuringiensis* et leur processus d'action chez les larves de Lépidoptères. *C. R. 13^e Symposium Phyt.-Phytoph.*, Gand, **3**, 1116-1126.

Mattes O., 1927. Parasitäre Krankheiten der Mehlmottenlarven und Versuche über ihre Verwendbarkeit als biologisches Bekämpfungsmittel. *Sitz. Ger. Gesell. Beford. gesam. Naturwiss, Marburg*, **62**, 381-417.

Mayer K., 1934. Beitrag zur Sinnesphysiologie der Schlupfwespe *Nemeritis canescens* grav. (Hym. Ichneum. Ophion.). *Arb. Phys. Ang. Ent.*, **1**, 245-248.

Metalnikov S., 1927. *L'infection microbienne et l'immunité chez la mite des Abeilles* Galleria mellonnella. Monogr. Inst. Pasteur, Masson et C^ie, Paris, 140 pages.

Metalnikov S., Chorine V., 1929. On the natural and acquired immunity of *Pyrausta nubilalis* hb. *Intern. Corn. Borer Invest. Sci. Repts.*, **2**, 22-38.

Metalnikov J., 1937. Utilisation des spores dans la lutte contre les insectes nuisibles. *C. R. Soc. Biol.*, **125**, 1020-1023.

Metchnikoff E., 1879. Diseases of the larva of the grain weevil. Insects harmful to agriculture. Odessa. 32 pages.

Muldrew J. A., 1953. The natural immunity of the larch sawfly (*Pristiphora erichsonii* htg.) to the introduced parasite *Mesoleius tenthredinis* morley, in Manitoba and Saskatchewan. *Canad. J. Zool.*, **31**, 313-332.

Myers J. G., 1929. Notes on some natural enemies of *Plodia interpunctella* and *Silvanus surinamensis* in Australia. *Bull. Entomol. Res.*, **20**, 425-430.

Narayanan E. S., 1939. « Auto-parasitism » by *Nemeritis canescens* grav. (Ichneumonidae). *Nature* **144** (3639), 207.

Norris M. J., 1932. Contributions towards the study in insect fertility. I. The structure and operations of the reproductive organs of the genera *Ephestia and Plodia* (Lepidoptera). *Proc. Zool. Soc. London*, 295-611.

Norris M. J., 1933. II. Experiments on the factors influencing fertility in *Ephestia kühniella*. *Proc. Zool. Soc. London*, 903-934.

Norris M. J., 1934. III. Adult nutrition, fecundity and longevity in the genus *Ephestia*. *Proc. Zool. Soc. London*, 333-360.

Northrup Z., 1914. A bacterial disease of june beetle larvae. *Bull. Mich. agric. exper. St.*, **18**, 38.

Ozer M., 1953. Étude anatomique et biologique d'*Ephestia kühniella* zell. *Ann. Épiphyties*, **4**, 479-509.

Paillot A., 1919. Cytologie du sang des chenilles de Macrolépidoptères. *C. R. Acad. Sci. Fr.*, **169**, 202-204.

Paillot A., 1933. *L'infection chez les insectes*. G. Pâtissier, Trévoux, 535 pages.

Pasteur L., 1868. Note sur la maladie des Vers à soie désignés vulgairement sous le nom des morts-blancs ou morts-flats. *C. R. Acad. Sci. Fr.*, **66**, 1289.

Pasteur L., 1870. *Études sur la maladie des Vers à soie*. Gauthier-Villars, Paris, Tome I, 322 pages. Tome II, 327 pages.

Pawlowsky E., 1914. Matériaux sur l'anatomie comparée de l'appareil génital des Hyménoptères. *Rev. russe Entomol., Petrograd*, **14**, 235-242.

Reed W. D., 1935. Notes on the distribution of cured tobacco insects in the Near East. *Proc. Entomol. Soc. Washington*, **37**, (**2**), 42-48.

Richards O. W., Waloff N., 1946. The study of a population of *Ephestia elutella* hbn. (Lepidoptera) living on bulk grain. *Trans. Roy. Entomol. Soc. London*, **97**, 253-298.

Richmond R. G., 1925. Wax Moth Parasite. *J. econ. Entomol.*, **28** 425.

Ries E., 1932. Experimentelle Symbiosestudien. Mycetomtransplantation. *Z. Morphol. Ökol. Tiere*, **25**, 184-234.

Rietra E., 1932. Iets over den Bouw en de Lewenswijze van *Nemeritis canescens* (gravenhorst) als interne parasite van de Larwe van *Ephestia kühniella* zeller. *Proefschrift Leiden* 1932, 1-120. Thèse.

Rooseboom M., 1937. Contribution à l'étude de la cytologie du sang de certains insectes, avec quelques considérations générales. *Arch. Neerland. Zool.*, **1**, 432-549.

Rosenberg H. T., 1934. The biology and distribution in France of the larval parasites of *Cydia pomonella* L. *Bull. entomol. Res.*, **25**, 201-256.

Rosenberger C. R., Jones J. C., 1960. Studies on total blood cell counts of the southern armyworm larva *Prodenia eridania* (Lepidoptera). *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, **53**, 351-355.

Salt G., 1934. Experimental studies in insect parasitism. Superparasitism. *Proc. Roy. Soc. London*, **B**, **114**, 455-476.

Salt G., 1936. Experimental studies in insect parasitism. The effect of superparasitism on populations of *Trichogramma evanescens*. *J. exper. Biol.*, **13**, 363-375.

Salt G., 1937. The sense used by *Trichogramma evanescens* wstw. to distinguish between parasited and unparasites hosts. *Proc. Roy. Soc. London*, **B**, **122**, 239-264.

Salt G., 1955. Experimental studies in insect parasitism. Host reactions following artificial parasitisation. *Proc. Roy. Soc. London*, **B**, **144**, 380-398.

SALT G., 1956. Experimental studies in insect parasitism. The reactions of a stick insect to an alien parasite. *Proc. Roy. Soc. London*, **B**, **145**, 193-198.

SALT G., 1957. Experimental studies in insect parasitism. The reactions of some endopterygote insects to an alien parasite. *Proc. Roy. Soc. London*, **B**, **146**, 167-184.

SALT G., 1959. Experimental studies in insect parasitism. The haemocytic reaction of a caterpillar under varied conditions. *Proc. Roy. Soc. London*, **B**, **141**, 446-467.

SALT G., 1964. The Ichneumonid parasite *Nemeritis canescens* (GRAVENHORST) in relation to the wax moth *Galleria mellonella* (L.). *Trans. Roy. Entomol. Soc. London*, **116**, 1-14.

SCHMIEDEKNECHT O., 1908-1911. Opuscula Ichneumonologica IV. Ophioninae. *Blankenburg/Thür.*, p. 1684 1688.

SCHNEIDER F., 1950. Die Abwehrreaktion des Insektenbluts und ihre Beeinflussung durch die Parasiten *Vierteljahresschr. Naturforsch. Gesell., Zürich.*, **95**, 22-44.

SIMMONDS F. J., 1943. The occurence of superparasitism in *Nemeritis canescens* GRAV. *Rev. Canad. Biol.*, **2** (1), 15-58.

SIMMONDS F. J., 1956. Superparasitism by *Spalangia drosophilae* ASH. *Bull. Entomol. Res.*, **47**, 361-376.

SMIRNOFF W. A., 1963. Recherches sur *Bacillus thuringiensis*. *Rapp. Ann. Lab. Entomol et Pathol. Forest. Québec*, 10 pages.

SMITH H. S., 1916 An attempt to redefine the host relationships by entomophagous insects. *J. Econ. Entomol.* **9**, 477-486.

SMITH H. S., 1929. Multiple parasitism : its relation to biological control of insect pests. *Bull. Entomol Res.*, **20**, 141-149.

SNODGRASS R. E., 1935. Principles of Insect morphology. *New York, London*, 1-667.

SNOW F. H., 1896. Contagious diseases of the clunch bug. *Ann. rep. Kansas Agr. Exp. St .*, **5**, 7.

SORAUER P., 1953. Handbuch der Pflanzenkrankheiten., **4**, (**2**), 211, Berlin-Hamburg.

SPEICHER B. R., 1937. Oogenesis in a thelytokous Wasp *Nemeritis canescens* GRAV. *Philadelphia J. Morph.*, **61** (3), 453-472.

STEINHAUS E. A., 1957. List of Insects and their susceptibility to *Bacillus thuringiensis* BERLINER and closely related bacteria. *Mimeographed series Lab. Ins. Path., Berkeley, U. S. A.*, **4**, 1-24.

STEINHAUS E. A., 1963. Insect Pathology. *An advanded treatise Academic Press N. Y. and London*, **1** et **2**, 1-661, 1-689.

TAKAHASHI F., 1959. Synchrony between the Parasitoid Wasp. and its host in their interacting system *Jap. J. Appl. Entomol. Zool.*, **1** (4), 259-264.

TAKAHASHI F., 1959. The effect of host finding efficiency of parasite on the cyclic fluctuation of population in the interacting system of *Ephestia* and *Nemeritis*. *Jap. J. Ecol.*, **9**, 88-92.

TANADA Y., 1961. The epizootiology of virus diseases in field populations of the armyworm. *Pseudaletia unipuncta* (HAWORTH). *J. Insect. Path.*, **3**, 310-323.

TAUBER O. E., 1940. Mitotic response of roach hemocytes to certain pathogenes in the hemolymph. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, **83**, 113.

THOMPSON C. G., 1887. Opuscula entomologica. *Fasc. 11, Lundae 1887*, 1120 pages.

THOMPSON W. R., 1930. Reaction of the phagocytes of arthropods to their internal insect parasites. *Nature*, **125**, 565-566.

THOMPSON W. R., 1957. Catalogue of the parasites and predators of insect pests. Hosts of the Hymenoptera (Ichneumonidae) ; *Commonwealth Institute of Biological Control*, Ottawa, **2**, 332-561.

THOMPSON C. G., STEINHAUS E. A., 1950. Further tests using a polyhedrosis virus to control the alfalfa caterpillar. *Hilgardia*, **19**, 411-445.

THORPE W. H., JONES F. G. W., 1937. Olfactory conditioning in a parasitic insect and its relation to the problem of host selection. *Proc. Roy. Soc. London*, **B**, **124**, 56-81.

THORPE W. H., 1938. Further experiments on olfactory conditioning in a parasitic insect. The nature of the conditioning process. *Proc. Roy. Soc. London*, **B**, **126**, 370-397.

THORPE W. H., 1939. Occurence of the male of *Nemeritis canescens* in Britain. *Proc. Roy. Entomol. Soc. London*, **A**, **14**, 17.

TOUMANOFF C., VAGO C., 1953. Étude histopathologique des Vers à soie atteints par *Bacillus cereus* var. *alesti*. *Ann. Inst. Pasteur*, **84**, p. 376.

TOUMANOFF C., VAGO C., 1953. Recherches sur l'effet toxique de *Bacillus cereus* var. *alesti* vis-à-vis des Vers à soie. *Ann. Inst. Pasteur*, **84**, 623-627.

TOUMANOFF C., 1955. Au sujet de souches cristallophores entomophytes de *Cereus*. *Ann. Inst. Pasteur*, **89**, 644-653.

TOWNES H., TOWNES M., GUPTA W. K., 1961. Catalogue reclassification of the indo-australian Ichneumonidae. *Mem. amer. entomol. Inst.*, **1**, 522 pages.

TUBEUF C., 1892. Die Krankheiten der Nonne (*Liparis monacha*). *Forstl. Natur. Zschr.*, **1**, 34-37.

ULLYETT G. C., 1936. Host-selection by *Microplecton fuscipennis* ZETT. (Chalc.). *Proc., Roy. Soc.* **B**, **120**, 253-291.

ULLYETT G. C., 1953. Biomathematics and insect population problems. A critical review. *Mem. Entomol. South. Afr.*, **2**, 1-89.

Umeya Y., 1926. Studies on the silkglands of the silkworm. *Bull. Seric. Exper. Stat. Chosen*, **1**, 27-48.

Ustinov A. A., 1932. A review of pests of tobacco in Abkhazia observederin 1931. *Sukhum, Abkhazsk. Tobachn. J.*, 7-13.

Vago C., 1956. *L'enchaînement des maladies chez les Insectes*. Éd. Spéc. Comm. Sér. Intern., 184 pages.

Vago C., 1962. Ecologie des viroses d'insectes. *Coll. Intern. Path. Ins. Lutte Microbiol.*, Paris 1962, 423-443.

Vago C., Fosset J., Amargier A., 1962. Dissémination des virus d'insectes par les Mouches (sous presse).

Vago C., 1963. Predispositions and interrelations in insect diseases. In Steinhaus E. A. *Insect Pathology*, **1**, 339-381.

Vankova I., 1957. Study of the effect of *Bacillus thuringiensis* on insects. *Folia Biologica* (Prague), **3**, 175-182.

Voinovskaia-Krieger T. K., 1927. Zur Biologie von *Nemeritis canescens* grav. der Parasiten *Ephestia kühniella* zell. *Rep. Bur. App. Entomol.*, **3**, 24-35, Leningrad.

Voukasovitch P., 1929. Observations biologiques sur un Lépidoptère (*Ephestia kühniella* zell). *C. R. Soc. Biol.*, **1**, 63-66.

Voukasovitch P., 1932. Novi prilog proucavanju entomofagnih insekata parazita. *Rada. Jug. Akad. Znan. Umjet.*, **244**, 20-47.

Voute A. D., 1935. Die Entwicklung der Mehlmotte *Ephestia kühniella* Z. bei konstanten und schwankenden Temperaturen, Part. II. *Z. Angew. Entomol.*, **22**, 165-184.

Whiting P. W. C., 1928. Biological notes on *Nemeritis canescens* grav. *Psyche*, **35**, 125-126.

Wigglesworth V. B., 1953. *The principles of insects physiology*. 5th Ed. London Methuen, 454 pages.

Wilson W. T., 1962. Observations on the effects of feeding large quantities of *Bacillus thuringiensis* berliner to honey bees. *J. Insect. Pathol.*, **4**, 269-270.

Wittig G., 1962. The pathology of insect blood cells : a review. *Ann. Zool.*, **2**, 257-272.

Yamvrias C., 1962. Contribution à l'étude du mode d'action de *Bacillus thuringiensis* berliner vis-à-vis de la Teigne de la farine *Anagasta* (*Ephestia*) *kühniella* zeller (Lépidoptère). *Entomophaga*, **7**, 101-159.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

RÔLE DES MALADIES A VIRUS DANS LES RÉGULATIONS DE POPULATIONS DE LÉPIDOPTÈRES DÉFOLIATEURS FORESTIERS

VU ET APPROUVÉ :
Paris, le 23 juin 1965.
Le Doyen de la Faculté des Sciences
Marc ZAMANSKY

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Paris, le 10 juillet 1965.
Le Recteur de l'Académie de Paris,
Jean ROCHE

Imprimerie Bussière à Saint-Amand (Cher), France. — 6-10-1965.

Dépôt légal : 3e trimestre 1965 *N° d'impression :* 1762.